

N° d'ordre : D.U. 1809

UNIVERSITE BLAISE PASCAL
U.F.R. Sciences et Technologies

ECOLE DOCTORALE DES SCIENCES FONDAMENTALES
N° 555

THESE

Présentée pour obtenir le grade de

DOCTEUR D'UNIVERSITE
Spécialité : Chimie Physique

Par PARAZOLS Marius

Diplômé d'Etudes Approfondies en Climat et Physico-Chimie de l'Atmosphère (CPCA)

Caractérisation physico-chimique et réactivité de la phase
aqueuse des nuages prélevée au sommet du puy de Dôme

Soutenue publiquement le 17 décembre 2007, devant la commission d'examen.

Président :

Claire RICHARD (DR)

Rapporteurs :

Michel LEGRAND (DR)

Anne MONOD (MCF)

Examineurs :

Nadine CHAUMERLIAC (DR)

Anne-Marie DELORT (DR)

Gilles MAILHOT (DR)

Claire RICHARD (DR)

Sergio ZAPPOLI (PR)

Remerciements

Trois ans de thèse c'est un certain nombre de rencontres et de relations humaines, plus ou moins heureuses, difficilement détachables de leur contexte et de leurs racines, qui impliquent toute une foule de remerciements. Afin d'y apporter un peu de structure, les remerciements iront des plus formels aux plus personnels apportant ainsi l'illusion d'une certaine finalité là où ne règne que le désordre le plus complet.

Je remercie tout d'abord Claire Richard, Jean Bolte et Nadine Chaumerliac respectivement directeurs du LPMM, SEESIB et LaMP pour leur accueil dans leurs laboratoires ... depuis mon stage de maîtrise où j'ai pu prendre mon premier contact avec l'observation scientifique des nuages. Je remercie aussi le Conseil Régional d'Auvergne pour avoir financé cette thèse et amélioré nettement mes relations avec ma banquière ... au moins deux fois par an.

Il convient ensuite de citer les personnes ayant encadré d'une manière ou d'une autre ces trois ans de thèse : Gilles Maillhot pour les aspects (photo)chimie et rédactionnel, Anne-Marie Delort (windy at the top ?) pour l'aspect microbiologie et enfin Paolo Laj pour les aspects prélèvement et physicochimie de l'atmosphère (ainsi que pour leur confiance). Je vous exprime en ces quelques lignes ma gratitude pour ce sujet de thèse et pour les relations diverses et variées que nous avons été amenés à développer pendant ces cinq années. J'aimerais aussi remercier Laurent Deguillaume, Anne Monod, Sergio Zappoli, Michel Legrand et Suzanne Preunkert pour leurs remarques scientifiques qui furent toujours très intéressantes.

Je remercie les membres du jury qui ont accepté de m'accorder de leur temps pour rapporter sur ce travail de thèse ainsi que pour se déplacer en Auvergne le jour de la soutenance.

Il serait injuste de ne pas rendre hommage à ceux qui m'ont précédé dans ce travail : Angela Marinoni qui avait eu la lourde tâche de débroussailler cet arpent de la connaissance humaine et Pierre Amato, spécialiste s'il en est des bactéries nuageuses, avec qui j'ai eu le plaisir de travailler pendant près de trois ans. Trois ans de folles expéditions au sommet du puy de Dôme par des temps à ne pas mettre un thésard dehors. Trois ans d'études intensives

des nuages mais aussi de discussions endiablées, de concerts, de bœufs musicaux, de jeux en réseaux ... un nombre incalculable de bières en terrasse ou au sommet ... une belle expérience partagée ...

J'en profite pour saluer les différents thésards et stagiaires avec qui j'ai pu travailler de manière moins formelle : Matthieu Ménager et Sébastien Raymond pour les soirées prélèvement au sommet du puy de Dôme, Guillaume Bertrand (le pluviologue), Lauréline Bourcier, Hervé Venzac, Otman Abida et Paolo Vilani. J'oubliais l'écrevisse (RIP) qui n'appartenait à aucune des deux catégories précédemment citées mais qui mérite tout de même un hommage posthume en tant que mascotte temporaire.

Je tiens aussi à remercier les stagiaires que j'ai eu la chance d'encadrer durant ces années de thèses : Sara, Valentina, Stéphane Fontanella, Rémy Galvane et Mickael Vaïtilingom (pas vraiment mon stagiaire mais un peu quand même). Je dis chance car on ne choisit pas ses stagiaires et je ne vois pas comment j'aurai pu mieux tomber ...

Enfin je tiens à saluer les personnels, intermittents de la recherche, thésards, stagiaires et pastèques des trois laboratoires cités précédemment (LPMM, SEESIS et LaMP). Notamment les personnes assurant les montées au sommet du Puy de Dôme : Jean-Marc (on the road again) plus particulièrement, Olive (ingénieur ingénieux), Pierre Chausse pour son soutien technique de chaque instant sur la chromatographie ionique et l'analyseur formaldéhyde (surtout sur ce dernier d'ailleurs) et aussi David pour ses compétences en informatique. Je remercie aussi Franck Roudil, Michèle Rahon et Jean-Claude Dessimont qui ont contribué tous les trois à la réalisation de la dernière génération d'enceintes d'irradiation que j'ai pu utiliser. Je salue particulièrement Alex pour une cohabitation de bureau très littéraire, Guillaume et Jean-Philippe pour leurs bonnes blagues, Pascal pour ses plans pinard (entre autre), Bernadette, Annie Rossi, Boris, Christian, Delphine, Andreï, Michal (Tavarlich !), Hana (NK), Sabrina, Antoine, Matthieu, Sylvain, Solène, Freddy, Mohamed Saraka, Michèle Bolte, Martine Sancelme, Bruno Combourieu, Vincent Thery (le C2i ce n'est pas rien tout de même), Eric Tomasella, Anne-Marie, Danièle, Jean-Philippe Désiront et Nicole pour les TP de chimie.

Bon cela dit tout ceci n'aurait jamais pu exister (sous cette forme tout au moins) sans le soutien de mes parents, de ma famille et des gens qui ont cru en moi au niveau scolaire et humain depuis pas mal de temps ... donc merci beaucoup à vous en toute simplicité. C'est je

crois le bon moment pour citer en passant mes amis d'enfance Logan, Agathe (et ses enfants adorables), Elsa (et le tout dernier), Matéo (et son petit) et Sarah ainsi que mon petit frère Charlie (1m85 tout est relatif ... surtout moi) & Marion pour toute cette humanité que j'apprécie par dessus de tout.

Je dédicace aussi ces remerciements au crew de l'IUT d'Aurillac (ah la S.A.V.E. remember !) : Mat (DJ Klone) avec qui on a fait un sacré bout de chemin (putain 8 ans !), Mat (Rook-1) pour ses cours de cuisine et des (road) trips divers et variés, Flo (Squabie le gaucher) pour son engagement et des (road) trips non moins divers et variés, Guillaume (Rastacarpe ... et chewbaka aussi parfois) en toute simplicité le meilleur pêcheur de carpe de la côte ouest de la Corrèze. Il y avait aussi Anne (grhwsette), Rodolphe, Benzébuth (Ah Mr Zébuth !), Magaly, Lucypunk (just married), Laurent et pas mal de monde donc toi-même tu sais ... bon grhw à tous !

Autre dédicace pour le Clermont crew : mes frères de la Trash Corporation (Original Hip Hop) DJ Klone, Rouquin'Squat et Lord Bob City ... Marie-Ange (Tu trouve ça épicé ?), le vieux Seb (Scandale ! ... Mais ouvrons les yeux !), Franckouze (Qu'est ce que j'entends ? On tient des propos intolérables ... où y a pas de tolérance !) & Amélie, Yoyo & lucille, cucul (Mr le professeur des écoles Q ... de merde bien entendu !), Olivier (rock n' roll attitude ... rescapé de la moribonde lyonnaise crew), Julien et Karen (lyonnaise des crew aussi), Pierrowitch & Adeline, Magali, Olivier & Béa, MC Jean Naman (Nevermind the click !) & Lucie, Guitoune, Erwan (Tu t'es vu quand tu fait des statistiques ... T'es ingénieur agronome toi ? Eh bien tu me fais bien marrer !) & Maud, Mémé & Cédric, Chididi, Butch, Simon, Aurélie, Odile, Risbo, Mimo & juliette ... je ne veux pas oublier non plus Nicolas Marchand (tranquillou), Gillou (the Coach) et Olive (hirsute mais plus trop ... alors que s'il l'eu su il l'UHT !) pour les plans pinard et déconne ... et puis les inclassables Jonathan (jojo la banane !) qui à découvert grâce à moi les contrôles d'identité et de douane ... et Yann (le préféré de ces dames) ...

Je remercie aussi mes deux pieds (pour les montées à la fac), mes deux mains et mes dix doigts ... pour le dessin et la basse ... « rhoooo l'autre il se remercie lui-même ! » « Oui mais je m'en moque ce sont mes remerciements HAHAAHAHAHAHA ! » ...

Pour finir merci à ce qui nous fait vibrer ... les passantes, la nature, le ciel ... et les nuages ...

Sommaire

1	Introduction et contexte de l'étude	11
1.1	Introduction générale.....	13
1.2	Démarche scientifique.....	15
1.3	Contexte de l'étude.....	17
1.3.1	Laboratoires impliqués	17
1.3.1.1	LPMM	17
1.3.1.2	SEESIB.....	17
1.3.1.3	LaMP	17
1.3.2	Projets scientifiques.....	17
1.3.2.1	ORE-BEAM – SO-BEAM	17
1.3.2.2	PNCA – LEFE CHAT	18
1.3.3	Autres travaux précédemment réalisés au puy de Dôme	19
2	Synthèse bibliographique	21
2.1	Chimie des nuages.....	23
2.1.1	Collecte des gouttelettes de nuage	24
2.1.2	Paramètres physicochimiques	25
2.1.2.1	Contenu en eau liquide	25
2.1.2.2	pH	26
2.1.2.3	Potentiel d'oxydoréduction	28
2.1.2.4	Conductivité	28
2.1.3	Les espèces ioniques	30
2.1.3.1	Contenu total en ions.....	30
2.1.3.2	Les anions inorganiques	30
2.1.3.2.1	Chlore	30
2.1.3.2.2	Composés azotés	31
2.1.3.2.3	Composés soufrés.....	32
2.1.3.3	Les cations inorganiques	33
2.1.3.3.1	Sodium	33
2.1.3.3.2	Ammonium.....	33
2.1.3.3.3	Potassium, magnésium et calcium	34
2.1.3.4	Le rapport marin.....	34
2.2	Les sources de radicaux HO•.....	36
2.2.1	L'ozone.....	38
2.2.2	La photochimie des composés azotés.....	39
2.2.2.1	Photolyse des nitrates	39
2.2.2.2	Photolyse des nitrites.....	40
2.2.3	Les métaux de transition	41
2.2.4	La photochimie du fer	42
2.2.4.1	Sources du fer dans les hydrométéores	42
2.2.4.2	Réduction photochimique du fer	43
2.2.4.3	Oxydation du fer.....	44
2.2.4.4	Mesures de terrain	45
2.2.5	La photochimie du peroxyde d'hydrogène.....	48
2.2.5.1	Sources gazeuses	48
2.2.5.2	Puits gazeux.....	48
2.2.5.3	Sources aqueuses.....	49

2.2.5.4	Puits aqueux	50
2.2.5.5	Mesures de terrain	51
2.2.6	Bilan des sources de radicaux HO [•]	53
2.3	La matière organique.....	55
2.3.1	Les espèces organiques dans les nuages	55
2.3.1.1	Le carbone organique total	55
2.3.1.2	Les acides carboxyliques.....	56
2.3.1.2.1	Généralités.....	56
2.3.1.2.2	Dans l'atmosphère.....	57
2.3.1.2.3	Sources	59
2.3.1.3	Les aldéhydes	62
2.3.2	Réactivité des espèces organiques en solution aqueuse	65
2.4	Les microorganismes dans les nuages.....	68
2.4.1	Généralités sur les microorganismes.....	68
2.4.2	Des microorganismes dans les nuages	69
2.4.3	Capacité de biodégradation de ces microorganismes.....	70
2.5	Recherche au sommet du puy de Dôme	74
3	Matériel et méthode.....	79
3.1	Prélèvements	81
3.1.1	Site de prélèvement	81
3.1.1.1	Situation	81
3.1.1.2	Instrumentation.....	82
3.1.2	Impacteurs à nuage.....	82
3.2	Analyses chimiques.....	84
3.2.1	Rétrotrajectoires	84
3.2.2	Paramètres physico-chimiques.....	84
3.2.3	Chromatographie ionique.....	84
3.2.4	Peroxyde d'hydrogène.....	85
3.2.5	Fer.....	86
3.2.5.1	Fe(II).....	86
3.2.5.2	Fe(total)	87
3.2.6	Métaux de transition.....	87
3.2.7	Carbone organique total (TOC).....	88
3.2.8	Formaldéhyde.....	88
3.3	Analyses microbiologiques	90
3.3.1	Dénombrement.....	90
3.3.2	Culture et isolement	91
3.3.3	Identification des souches isolées	91
3.3.4	Dosage de l'ATP	92
3.3.5	Biodégradations.....	92
3.3.5.1	Etalonnage.....	92
3.3.5.2	Incubation.....	93
3.4	Irradiations	94
3.4.1	Enceintes et lampes	94
3.4.1.1	Modèle elliptique à 3 néons	94
3.4.1.2	Modèle cylindrique à 4 néons	95
3.4.1.3	Modèle xénon.....	96
3.4.2	Actinométrie.....	98
4	Résultats	101
4.1	Les prélèvements.....	103

4.2	Climatologie des nuages au sommet du puy de Dôme.....	105
4.2.1	Variabilité de la phase aqueuse des nuages.....	106
4.2.2	Paramètres physicochimiques	107
4.2.2.1	pH	107
4.2.2.2	Potentiel d'oxydoréduction	108
4.2.2.3	Conductivité	109
4.2.3	Espèces inorganiques ioniques.....	111
4.2.3.1	Contenu total en ions.....	111
4.2.3.2	Composante océanique.....	113
4.2.3.3	Composante anthropique.....	114
4.2.3.3.1	Nitrate.....	114
4.2.3.3.2	Ammonium.....	115
4.2.3.3.3	Sulfates	116
4.2.3.3.4	Potassium	117
4.2.4	Espèces organiques	118
4.2.4.1	Carbone organique total (TOC).....	118
4.2.4.2	Acides carboxyliques	119
4.2.4.3	Formaldéhyde.....	121
4.2.5	Conclusions sur la chimie de la phase aqueuse des nuages	123
4.2.6	Interactions entre chimie et microorganismes.....	124
4.3	Les sources de radicaux HO•.....	128
4.3.1	Le fer	128
4.3.1.1	Résultats de terrain	128
4.3.1.1.1	Le fer dans les nuages du puy de Dôme.....	128
4.3.1.1.2	Les métaux de transition dans les nuages du puy de Dôme.....	132
4.3.1.1.3	Photochimie du fer	132
4.3.1.2	Irradiations en laboratoire	134
4.3.1.3	Conclusions sur la chimie du fer	135
4.3.2	La photochimie du peroxyde d'hydrogène.....	136
4.3.2.1	Résultats de terrain	136
4.3.2.1.1	Le H ₂ O ₂ dans les nuages du puy de Dôme.....	136
4.3.2.1.2	Artefact de prélèvement	136
4.3.2.1.3	Concentrations gazeuses	138
4.3.2.1.4	Variabilité jour/nuit.....	138
4.3.2.1.5	Effet de la climatologie	139
4.3.2.2	Irradiations de laboratoire	141
4.3.2.3	Conclusions sur le peroxyde d'hydrogène	142
4.3.3	Bilan sur les sources de radicaux HO•	143
4.4	Comparaison photochimie et biocatalyse.....	144
4.4.1	Composition des solutions modèles	144
4.4.2	Photodégradations	146
4.4.3	Biodégradations.....	150
4.4.4	Bilan Photodégradations vs biodégradations	151
4.4.5	Expérience combinée de photodégradation et Biodégradation	151
4.5	Voies de dégradation des acides carboxyliques	153
4.5.1	Etude de laboratoire	153
4.5.1.1	Généralités sur l'attaque par les radicaux HO•.....	154
4.5.1.1.1	Mécanisme d'attaque par les radicaux HO•	154
4.5.1.1.2	Stabilité des radicaux	158
4.5.1.1.3	Devenir du radical HOOC•.....	158

4.5.1.2	Voies de dégradation sous irradiation en présence de H_2O_2	159
4.5.1.2.1	Conditions expérimentales	159
4.5.1.2.2	Effet des concentrations initiales en H_2O_2	161
4.5.1.2.3	Comparaison H_2O_2 et nitrate	163
4.5.1.2.4	Acide formique (monocarboxylique C_1)	165
4.5.1.2.5	Acide acétique (monocarboxylique C_2)	166
4.5.1.2.6	Acide oxalique (dicarboxylique en C_2)	167
4.5.1.2.7	Formaldéhyde (aldéhyde en C_1)	169
4.5.1.2.8	Acétaldéhyde (aldéhyde en C_2)	171
4.5.1.2.9	Acide glyoxylique (monocarboxylique et aldéhyde en C_2)	174
4.5.1.2.10	Acide glycolique (monocarboxylique en C_2)	176
4.5.1.2.11	Acide propionique (monocarboxylique en C_3)	178
4.5.1.2.12	Acide lactique (monocarboxylique en C_3)	180
4.5.1.2.13	Acide pyruvique (monocarboxylique en C_3)	183
4.5.1.2.14	Acide malonique (dicarboxylique en C_3)	184
4.5.1.2.15	Acide succinique (dicarboxylique en C_4)	186
4.5.1.2.16	Acide malique (dicarboxylique en C_4)	188
4.5.1.2.17	Acide tartrique (dicarboxylique en C_4)	191
4.5.1.2.18	Acide glutarique (dicarboxylique en C_5)	192
4.5.1.2.19	Bilan des voies de dégradation	196
4.6	Eau de nuage	200
4.6.1	Irradiations en laboratoire d'eau de nuage	200
4.6.2	Résultats de terrain	204
4.6.3	Bilan réactivité des acides carboxyliques	205
5	Conclusion générale	207
6	Perspectives	209
7	Références des tableaux et figures	211
7.1	Tables	213
7.2	Figures	215
8	Références bibliographiques	219
9	Annexes	249

1 Introduction et contexte de l'étude

« Rien ne saurait entamer ton optimisme.

— Si ces nuages le peuvent. »

Sam et Frodon – Le seigneur de Anneaux de J. R. R. Tolkien

1.1 Introduction générale

Les nuages et brouillards représentent en moyenne 7% du volume de la troposphère et environ 15% de celui de la basse troposphère. Bien sûr cette phase aqueuse atmosphérique ne constitue qu'une infime partie des systèmes aqueux de notre planète. Mais, malgré ce faible volume d'eau, les hydrométéores forment une interface très réactive entre la phase particulière piégée dans les gouttelettes et la phase gazeuse interstitielle. La phase aqueuse des nuages est donc un milieu récepteur pour les espèces solubles des aérosols et des gaz troposphériques. En milieu nuageux des espèces chimiques qui ne sont habituellement pas en contact en atmosphère sèche vont pouvoir coexister pour initier de nouvelles réactions. Du fait des phénomènes d'évaporation, de condensation, de fragmentation et d'agrégation que subissent ces gouttelettes, elles ne peuvent que constituer des milieux de faible temps de vie qui assurent cependant un brassage potentiel des réactifs et des réactions chimiques qui y prennent place.

La phase aqueuse est généralement plus réactive que la phase gazeuse notamment du fait de la présence d'espèces ioniques. De plus, on trouve dans la phase aqueuse des nuages un grand nombre de sources potentielles d'espèces réactives telles que les radicaux libres. L'identification et l'estimation de l'importance relative des différentes sources et puits de ces espèces radicalaires constituent une problématique cruciale pour la modélisation de la chimie de la phase aqueuse des nuages. Les gouttelettes de nuages initient des phénomènes de diffraction et de réfraction de la lumière solaire qui peuvent transformer le nuage en un formidable ensemble de microréacteurs photochimiques. Enfin il faut noter que la présence de microorganismes potentiellement actifs permet de penser que cette phase aqueuse troposphérique est le siège d'une réactivité importante susceptible d'avoir un impact sur la chimie atmosphérique, notamment sur celle de la matière organique. Parmi cette matière organique présente dans la phase aqueuse des nuages, les acides carboxyliques représentent une part importante aussi bien en terme de quantité que de réactivité. Bien que leurs sources et leurs puits soient relativement bien identifiés dans l'atmosphère, les transformations secondaires qu'ils sont susceptibles de subir dans l'eau des nuages sont encore méconnues. L'étude de la chimie atmosphérique et plus particulièrement de celle des hydrométéores a été initiée par la découverte des nuisances créées par les activités humaines. L'influence anthropique sur la chimie et la réactivité des nuages constitue donc une question cruciale.

Ce travail de thèse porte sur la chimie de l'eau atmosphérique prélevée au sommet du puy de Dôme et sur l'impact relatif de la lumière et des microorganismes sur celle-ci. Cette problématique nous amène à étudier au préalable la chimie de la phase aqueuse des nuages prélevée au puy de Dôme puis les différentes sources photochimiques potentielles de radicaux libres dans la phase aqueuse des nuages ainsi que la présence, la viabilité et les capacités de biodégradation des microorganismes dans nos échantillons. Cet aspect microbiologique a été abordé très largement dans la thèse de Pierre Amato (Amato, 2006) (SEESIB sous la responsabilité de Anne-Marie Delort et Martine Sancelme) et dans les publications qui en découlent et ne sera abordé ici que dans la partie bibliographique, ainsi qu'à la fin des résultats pour essayer de comparer les impacts respectifs. En conséquence une fois la chimie des nuages caractérisée et des sources potentielles de radicaux libres identifiées nous aborderons les voies de dégradation de certains composés organiques initiées par les radicaux libres. Enfin au regard de ces expériences nous essaierons de mettre en évidence les dégradations de la matière organique dans la phase aqueuse des nuages en laboratoire et *in situ*. Cette étude vise à terme à apporter des informations pertinentes pour paramétrer les modèles de chimie multiphasique troposphérique afin de rendre compte au mieux de la réactivité des nuages.

1.2 Démarche scientifique

Pour répondre à la problématique posée concernant la réactivité de la phase aqueuse des nuages, nous avons abordé successivement les différentes parties suivantes :

- Une étude de la chimie de la phase aqueuse des nuages prélevée au sommet du puy de Dôme qui nous permettra de caractériser le plus précisément possible les différents nuages échantillonnés. En effet, des modifications, notamment anthropiques, de cette composition chimique sont susceptibles de modifier la réactivité de la phase aqueuse des nuages. Il est donc important d'établir des critères physico-chimiques pertinents permettant de décrire au mieux les masses d'air nuageuses échantillonnées au puy de Dôme. De plus ce travail permettra d'affiner les études précédemment publiées sur la composition chimique des nuages échantillonnés au puy de Dôme en dressant un état des lieux au regard de nouveaux paramètres analysés depuis. Les effets de ces modifications chimiques sur les populations de microorganismes susceptibles de participer à la réactivité de la phase aqueuse des nuages seront aussi abordés ici.
- Ensuite nous pourrons aborder le deuxième point de cette thèse, c'est-à-dire les sources photochimiques de radicaux HO^\bullet dans la phase aqueuse des nuages. Cette étude se concentrera essentiellement sur deux composés présents dans les gouttelettes de nuages qui sont le fer dissous et le peroxyde d'hydrogène. Ils seront abordés par une analyse de terrain au regard de la chimie mise en évidence précédemment, puis par une étude de laboratoire qui permettra en conditions contrôlées de vérifier les phénomènes observés *in situ*.
- Une comparaison des réactivités des microorganismes et des radicaux HO^\bullet qui sera conduite en laboratoire sur des solutions « artificielles » de nuage. Cette étude représente un pas de plus vers des tests dans des systèmes réels plus complexes en proposant une expérimentation combinée des deux réactivités ainsi que des milieux plus complexes en ajoutant les espèces ioniques inorganiques.

- L'effet des radicaux HO^\bullet sur certains composés organiques de la phase aqueuse des nuages sera abordé au cours d'une importante étude de laboratoire portant sur les voies de dégradation des acides carboxyliques les plus présents dans les échantillons de nuages. En effet nous verrons que les acides carboxyliques représentent une part importante de la matière organique trouvée dans les gouttelettes de nuage. Cette étude vise à la mise en place d'un schéma réactionnel permettant de mettre en évidence les différentes voies reliant ces acides carboxyliques.
- Enfin, l'irradiation d'eau de nuage prélevée au sommet du puy de Dôme et l'analyse temporelle des données *in situ* des acides carboxyliques nous permettra de discuter des phénomènes mis en évidence préalablement en laboratoire.

L'ensemble de cette démarche nous permettra de mettre en évidence et de caractériser la réactivité de la phase aqueuse des nuages prélevée au puy de Dôme au regard de paramètres physico-chimiques analysés sur une large base de données récurrentes.

1.3 Contexte de l'étude

1.3.1 Laboratoires impliqués

Cette étude sur la réactivité des nuages et l'influence de la photochimie et des microorganismes sur cette réactivité est basée sur une collaboration pluridisciplinaire entre trois laboratoires du pôle clermontois (université Blaise Pascal – UBP).

1.3.1.1 LPMM

Le laboratoire de photochimie moléculaire et macromoléculaire est une unité mixte de recherche associée UBP-CNRS (N°6505) qui consacre son activité de recherche à l'étude des effets de la lumière dans deux domaines majeurs : les matériaux polymères et l'environnement.

1.3.1.2 SEESIB

Le laboratoire de synthèse et étude des systèmes à intérêt biologique est une unité mixte de recherche associée UBP-CNRS (N°6504) qui consacre son activité de recherche à la synthèse de molécules bioactives, la biocatalyse et la biodégradation de composés organiques.

1.3.1.3 LaMP

Le laboratoire de météorologie physique est une unité mixte de recherche associée UBP-CNRS (N°6016) qui appartient à l'observatoire de physique du globe de Clermont-Ferrand (OPGC). Il consacre son activité de recherche à l'étude de l'atmosphère dans quatre domaines majeurs : le cycle de vie des nuages, l'interaction nuage/climat, les pollutions atmosphériques et le développement instrumental.

1.3.2 Projets scientifiques

1.3.2.1 ORE-BEAM – SO-BEAM

Cette thèse s'inscrit dans le cadre de la création par le Ministère de la Recherche d'un Observatoire de Recherche en Environnement (ORE) en Région Auvergne intitulé « Biophysicochimie de l'Eau Atmosphérique et Modifications anthropiques » (BEAM). Son objectif étant de documenter et de quantifier l'impact de modifications environnementales d'origine anthropique :

- sur le transfert et la transformation d'espèces chimiques dans l'eau atmosphérique et ses conséquences sur le climat,

- sur la composition chimique de la troposphère,
- sur la structure et le fonctionnement des communautés microbiennes.

L'ORE-BEAM a pour originalité de fédérer des laboratoires mixtes CNRS/Université Blaise Pascal (Clermont-Ferrand) précédemment cités, impliqués dans l'étude de l'eau pour aborder de façon pluridisciplinaire les problèmes posés par les interactions entre l'eau atmosphérique et l'environnement.

L'ORE-BEAM propose de documenter et de comprendre les processus d'évolution de l'eau atmosphérique sous l'influence des activités humaines en observant l'entité eau atmosphérique (au sommet du puy de Dôme).

L'ORE-BEAM a été transformé récemment en service d'observation (SO-BEAM) soutenu par l'institut national des sciences de l'univers (INSU).

1.3.2.2 PNCA – LEFE CHAT

Anciennement cofinancé dans le cadre du programme national de chimie atmosphérique (PNCA), ce projet s'inscrit désormais dans un projet coordonné et géré par l'INSU : les enveloppes fluides et l'environnement (LEFE) – chimie atmosphérique (CHAT).

L'objectif de ce projet (LEFE-CHAT) est de comprendre et prédire les émissions de polluants, leurs transformations, les dépôts et leur dispersion dans l'atmosphère ainsi que d'identifier et comprendre les évolutions à long terme des teneurs des composés à effet de serre et leurs impacts.

Dans ce projet nous nous attachons à étudier le rôle joué par la phase aqueuse atmosphérique sur le bilan de la chimie des composés organiques et sur sa capacité de transformation de ces espèces. En particulier il se focalise sur les acides mono- et dicarboxyliques et sur le rôle respectif de la photochimie et de la biocatalyse sur la transformation de ces espèces organiques. Ce projet met en œuvre l'ensemble des laboratoires précédemment cités avec une expertise du LPMM sur l'aspect photochimie, du SEESIB sur l'aspect biocatalyse, du LGGE (unité mixte CNRS – université Joseph Fourier de Grenoble) sur les mesures en phase aqueuse de composés organiques (acides dicarboxyliques et aldéhydes) et du LaMP sur les aspects modélisation.

1.3.3 Autres travaux précédemment réalisés au puy de Dôme

Cette étude sur la physico-chimie et la réactivité de la phase aqueuse des nuages échantillonnée au sommet du puy de Dôme s'inscrit dans la continuité d'autres études conduites sur ce site et notamment des campagnes de prélèvements CIME (Cloud Ice Mountain Experiment) (nuages mixtes), puy de Dôme 2000 et 2001, ainsi que CARBOSOL (aérosols inorganiques et organiques). Ces études concernent la caractérisation de la chimie de la phase aqueuse des nuages (Marinoni *et al.*, 2004), la capture par les nuages mixtes des gaz acides de la phase gazeuse interstitielle (Voisin *et al.*, 2000), mais aussi les interactions entre aérosols, phase interstitielle et gouttelettes de nuage (Sellegri *et al.*, 2003(b) ; Sellegri *et al.*, 2003(c)), une climatologie des différents types de masses d'air rencontrées sur le site de prélèvement (Sellegri *et al.*, 2003(a)), et des études de modélisation des événements nuageux relevés au puy de Dôme (Leriche *et al.*, 2001 ; Leriche *et al.*, 2003 ; Leriche *et al.*, 2007). De plus elle est parallèle à la thèse de Pierre Amato (Amato, 2006) et aux publications qui en découlent (Amato *et al.*, 2005 ; Amato *et al.*, 2007(a) ; Amato *et al.*, 2007(b) ; Amato *et al.*, 2007(c)) portant sur les microorganismes de la phase aqueuse des nuages prélevée au sommet du puy de Dôme et à leur activité biocatalytique.

Cf. 2.5 pour une revue plus complète des études réalisées sur le site du puy de Dôme.

2 Synthèse bibliographique

*« Tout ce qu'on voit encore se développer
dans les airs et naître au-dessus de nous,
tout ce qui se forme dans les nuages, tout
enfin, neige, vents, grêle, gelées, et le gel si
puissant qui durcit le cours des eaux et ralentit
ou arrête çà et là la marche des fleuves,
tout cela peut aisément s'expliquer, ton esprit
n'éprouvera aucune peine à comprendre les
causes et à en pénétrer le secret, du moment
que tu connais bien les propriétés des atomes. »*

De Rerum Natura – Lucrèce

*« Tu devras toi aussi un jour comprendre
qu'il y a une différence entre connaître
le chemin et arpenter le chemin ... »*

Matrix – Morpheus à Neo

2.1 Chimie des nuages

La phase aqueuse des nuages est constituée d'un grand nombre de composés solubles prenant leur source dans la solubilisation des aérosols (noyaux de condensation et aérosols lessivés) ainsi que dans le transfert des gaz de la phase interstitielle. La réactivité de cette phase aqueuse est donc tributaire de sa réactivité photochimique ainsi que de celles des aérosols de la phase particulaire et des gaz de la phase gazeuse. La réactivité de la phase gazeuse a été très largement étudiée (Rhäsa and Zellner, 1987 ; Tang *et al.*, 1998 ; Güsten, 1999 ; Finlayson-Pitts and Pitts, 2000) et a fait l'objet de nombreux modèles ayant permis d'en évaluer assez correctement les principales réactions. La réactivité de la phase particulaire est moins connue tant sur ses aspects chimiques que microphysiques en plein développement. La réactivité des gouttelettes de nuage est quant à elle assez faiblement documentée notamment à cause du manque de données récurrentes et intensives de terrain permettant de mettre en évidence des tendances claires. Une autre limitation provient de l'hétérogénéité inhérente aux nuages : hétérogénéité de taille des gouttelettes, hétérogénéité du rayonnement solaire selon la position considérée dans le nuage. Ces hétérogénéités ont potentiellement des incidences sur la chimie du nuage. De plus les volumes échantillonnés nécessaires pour pratiquer des analyses complètes sur la phase aqueuse du nuage impliquent des temps de collecte importants ainsi qu'un mélange moyennant l'hétérogénéité chimique éventuelle du nuage. L'analyse des gouttelettes de manière individuelle n'étant possible que pour un nombre limité de composés (Tenberken and Bächmann, 1997). De plus la chimie d'une gouttelette elle-même peut être modifiée par l'existence de phénomènes de surface entraînant des hétérogénéités à l'intérieur de la gouttelette elle-même (Vione *et al.*, 2007).

La diversité des composés de la phase aqueuse des nuages permet tout de même de dégager un certain nombre de grandeurs et de composés essentiels que l'on supposera représentatifs des phénomènes chimiques qui s'y déroulent. En préalable nous allons aborder succinctement les différentes méthodes de prélèvement de la phase aqueuse des nuages puisqu'elles conditionnent en partie les paramètres mesurés sur cette dernière.

2.1.1 Collecte des gouttelettes de nuage

On distingue tout d'abord deux types de collecteurs selon la présence ou non d'un dispositif d'aspiration.

- Les collecteurs passifs (string-collectors) sont constitués de fils généralement métalliques sur lesquels se déposent les gouttelettes d'eau qui s'écoulent ensuite dans un récipient de collecte. La passivité du mode de prélèvement empêche toute sélection de l'échantillonnage. En conséquence les gouttelettes de nuages ne sont pas séparées des aérosols secs de l'air interstitiel. De plus le volume d'air échantillonné n'est pas connu ce qui peut constituer une limitation dans certaines analyses.
- Les collecteurs actifs sont constitués d'un dispositif d'aspiration et d'un dispositif de prélèvement permettant par la création d'un diamètre de coupure de sélectionner par inertie une taille inférieure limite de gouttelettes nuageuses. Ces dernières vont s'impacter sur une plaque d'impaction surmontant un vase de collecte permettant de récupérer l'échantillon aqueux. On pourra trouver une description détaillée de ce type d'impacteur dans Kruisz *et al.*, 1993. Ces collecteurs permettent de sélectionner la taille des particules échantillonnées ce qui évite les pollutions dues aux aérosols interstitiels. De plus, ils peuvent être dotés d'un système multi étages permettant la collecte de différentes gammes de tailles de gouttelettes. Ce type d'impacteur est le plus couramment utilisé, notamment pour les études s'intéressant à l'hétérogénéité des nuages en fonction de la taille des gouttelettes qui les constituent.

Une description assez complète des différentes méthodes d'échantillonnage des hydrométéores, mais très orientée sur l'échantillonnage des pluies, et de leur impact sur les mesures effectuées est proposée par Krupa, 2002. On remarquera notamment que les temps de collecte (généralement proches d'une heure) ne sont pas sans conséquence sur les analyses temporelles que l'on peut être amené à effectuer. En effet ces temps de prélèvement induisent un mélange moyennant les variations temporelles et modifient potentiellement les équilibres de la composition chimique par une mise au repos de l'échantillon perdant ses caractéristiques de gouttelette pour devenir une solution aqueuse de volume important.

2.1.2 Paramètres physicochimiques

2.1.2.1 Contenu en eau liquide

Le contenu en eau liquide (LWC¹) des hydrométéores exprimé généralement en masse (ou volume) d'eau par volume d'air est fonction de l'humidité du nuage ou du brouillard étudié. Il a tendance à croître avec le diamètre moyen des gouttelettes (5 µm à 100 µm). Ce paramètre est important puisqu'il va contrôler dans une certaine mesure la dilution des espèces en solution dans les hydrométéores. En effet la solubilité des espèces contenues dans les aérosols lessivés n'est pas infinie. En conséquence on va généralement observer que plus ce contenu en eau liquide va augmenter, plus les concentrations seront faibles. Ainsi de manière générale les brouillards qui ont des tailles de gouttelettes plus faibles (diamètre < 5 µm) que les nuages présentent des concentrations aqueuses plus fortes en solution. A contrario, les pluies qui présentent des tailles de gouttelettes plus importantes (diamètre > 100 µm) sont généralement plus diluées même si des phénomènes de lessivage peuvent modifier cette tendance, au moins au début des événements pluvieux. Ces phénomènes de dilution sont susceptibles d'influencer la réactivité chimique et photochimique en modifiant la force ionique ou les propriétés optiques du nuage.

Un même événement nuageux présente aussi une hétérogénéité dans la taille des gouttelettes qui le constituent du fait des nombreux phénomènes microphysiques ayant lieu (évaporation, condensation, fractionnement et accréation des gouttelettes). Généralement les bordures du nuage (notamment la base et le sommet) présentent des gouttelettes plus petites et moins homogènes du fait du contact avec l'environnement plus sec, à l'opposé le cœur du nuage est plus homogène avec des gouttelettes de taille supérieure (Wieprecht *et al.*, 2005). Cette hétérogénéité de taille peut entraîner des variations dans la composition chimique des gouttelettes (Rao and Collett, 1995 ; Sauer *et al.*, 1996 ; Schwanz *et al.*, 1998 ; Xu *et al.*, 1999 ; Moore *et al.*, 2004). Il faut aussi noter que des tailles de gouttelette différentes peuvent aussi influencer l'énergie lumineuse solaire dans les hydrométéores du fait des phénomènes de réfraction et de diffraction de la lumière (Ruggaber *et al.*, 1997).

Dans la littérature (cf. Tableau 2-1) les valeurs de contenu en eau liquide vont de 0,02 g.m⁻³ à 0,94 g.m⁻³ montrant une grande hétérogénéité qui, comme nous l'avons vu, peut expliquer quelques disparités observées au niveau de la réactivité des nuages.

¹ Liquid Water Content

Lieux	LWC (g.m ⁻³)	Références
Zürich (Suisse) (brouillard)	0,05 – 0,15	Behra and Sigg, 1990
Bakersfield (USA)	0,06 – 0,15	Erel <i>et al.</i> , 1993
Delaware (USA)	0,02 – 0,10	Erel <i>et al.</i> , 1993
Henninger (USA)	0,04 – 0,14	Erel <i>et al.</i> , 1993
San Pedro (USA)	0,02 – 0,21	Erel <i>et al.</i> , 1993
Los Angeles (USA)	0,04 – 0,28	Richard, 1995
Great Dun Fell (UK)	0,10 – 0,72	Laj <i>et al.</i> , 1997
Cheeka peak (USA)	0,35 – 0,45	Vong <i>et al.</i> , 1997
Jungfrauoch (Suisse)	0,02 – 0,29	Poulida <i>et al.</i> , 1998
San Pietro Capofiume (Italie) (Brouillard)	0,04 – 0,14	Schwanz <i>et al.</i> , 1998
Rocheuses (USA)	0,02 – 0,62	Xu <i>et al.</i> , 1999
Kleiner Feldberg (Allemagne)	0,05 – 0,56	Deutsch <i>et al.</i> , 2001
Apennins (Italie)	0,06 – 0,94	Cini <i>et al.</i> , 2002
Rax (Autriche)	0,16 – 0,59	Löflund <i>et al.</i> , 2002
Puy de Dôme (France)	0,06 – 0,58	Marinoni <i>et al.</i> , 2004
Forêt de Thuringe (Allemagne)	0,02 – 0,62	Wieprecht <i>et al.</i> , 2005

Tableau 2-1 : Valeurs de LWC de nuages reportées dans la littérature.

2.1.2.2 pH

Le pH des hydrométéores est principalement conditionné par la solubilisation du dioxyde de carbone gazeux. Ainsi cette espèce, qui est un des composés mineurs¹ de l'atmosphère les plus abondant, du fait de sa solubilité (faible si l'on regarde la loi d'Henry mais en fait largement sous estimée du fait des équilibres acides/bases) permet d'atteindre à l'équilibre un pH de 5,6. Un grand nombre d'espèces en provenance de la phase gazeuse (SO₂, HNO₃, NH₃, acides carboxyliques) et de la phase particulaire (H₂SO₃, CaCO₃) vont modifier cette valeur en passant en solution dans la phase aqueuse atmosphérique. La présence de nombreux composés entrant dans les équilibres acide/base (nitrate, sulfate, ammonium, carbonates) ainsi qu'une grande quantité d'acides organiques de faible poids moléculaire (C₁ à C₃ avec surtout l'acide formique et l'acide acétique) (Fornaro and Gutz, 2003) génère un effet tampon dans les hydrométéores. Certaines études ont montré que la présence de ces composés n'expliquait que partiellement les pH mesurés dans les hydrométéores. Ceci révèle ainsi la présence d'autres composés non identifiés, ayant un pouvoir tampon, dont les concentrations seraient corrélées à celles des acides formique et acétique (Collett *et al.*, 1999).

¹ Par opposition avec l'azote, l'oxygène et l'argon qui représentent 99,9% (en volume) des gaz atmosphériques.

Lieux	pH	Références
Zürich (Suisse) (brouillard)	3,0 – 7,0	Behra and Sigg, 1990
Henninger (USA)	2,5 – 3,9	Erel <i>et al.</i> , 1993
San Pedro (USA)	2,2 – 4,2	Erel <i>et al.</i> , 1993
Delaware (USA)	2,9 – 3,8	Erel <i>et al.</i> , 1993
Bakersfield (USA)	6,4 – 7,1	Erel <i>et al.</i> , 1993
Whiteface (USA)	3,0 – 5,0	Arakaki <i>et al.</i> , 1995
Bakersfield (USA)	5,9 – 6,9	Rao and Collett, 1995
La Jolla Peak (USA)	2,9 – 3,9	Rao and Collett, 1995
Angora Peak (USA)	4,2 – 6,0	Rao and Collett, 1995
Mont Mitchell (USA)	2,4 – 3,3	Rao and Collett, 1995
Whiteface (USA)	4,2 – 5,1	Rao and Collett, 1995
Los Angeles (USA)	2,3 – 3,8	Richard, 1995
Great Dun Fell (UK)	3,0 – 5,5	Laj <i>et al.</i> , 1997
Kollo (Niger) et Lamto (Côte d'Ivoire) (pluie)	4,5 – 6,4	Freydier <i>et al.</i> , 1998
San Pietro Capofiume (Italie) (brouillard)	2,6 – 5,8	Schwanz <i>et al.</i> , 1998
San Joaquin Valley (USA) (brouillard)	5,9 – 7,0	Collett <i>et al.</i> , 1999
Miami (USA) (pluie)	4,9 – 7,3	Deng and Zuo, 1999
Wilmington (USA) (pluie)	~ 4,5	Kieber <i>et al.</i> , 1999
Rocheuses (USA)	3,5 – 6,5	Xu <i>et al.</i> , 1999
Kleiner Feldberg (Allemagne)	3,2 – 5,0	Deutsch <i>et al.</i> , 2001
Los Angeles (USA) (pluie)	3,5 – 6,1	Kawamura <i>et al.</i> , 2001
Krusne Hory plateau (Rep. Tchèque)	3,0	Bridges <i>et al.</i> , 2002
Apennins (Italie)	3,2 – 6,2	Cini <i>et al.</i> , 2002
Sacramento Valley (USA)	5,5 – 7,0	Collett <i>et al.</i> , 2002
Côte sud Californie (USA)	3,0 – 3,5	Collett <i>et al.</i> , 2002
Côte Oregon(USA)	4,0 – 5,0	Collett <i>et al.</i> , 2002
Rocheuses Colorado (USA)	3,5 – 5,0	Collett <i>et al.</i> , 2002
Mont Mitchell Caroline du nord (USA)	2,5 – 3,5	Collett <i>et al.</i> , 2002
Whiteface (USA)	3,0 – 4,0	Collett <i>et al.</i> , 2002
Rax (Autriche)	3,4 – 5,3	Löflund <i>et al.</i> , 2002
Puy de Dôme (France)	3,5 – 6,1	Marinoni <i>et al.</i> , 2004
Forêt de Thuringe (Allemagne)	4,0 – 5,1	Brüggemann <i>et al.</i> , 2005
Jeju (Corée du sud)	5,6 – 6,7	Decesari <i>et al.</i> , 2005
Mont Fuji (Japon) (brouillard et pluie)	4,0 – 6,8	Watanabe <i>et al.</i> , 2006

Tableau 2-2 : Valeurs de pH dans la phase aqueuse des nuages reportées dans la littérature.

De manière générale le pH est plus faible dans les hydrométéores ayant subi une influence anthropique du fait de la présence en plus grande quantité d'espèces acides

(solubilisation notamment des SO₂, HNO₃ et acides carboxyliques gazeux ainsi que du H₂SO₃ et des acides carboxyliques des aérosols) (Collett *et al.*, 2002 ; Watanabe *et al.*, 2006). Des pH allant de 2,2 pour les plus acides jusqu'à 7,3 pour les plus élevés ont été mesurés dans les hydrométéores (cf. Tableau 2-2).

2.1.2.3 Potentiel d'oxydoréduction

L'oxydoréduction est un processus de transfert d'électrons d'une espèce à une autre où le réducteur donne des électrons à un accepteur appelé oxydant. Ainsi, par exemple (cf. [1]) dans le couple Fe³⁺/Fe²⁺ le Fe³⁺ est à l'état oxydé Fe(III) et agit comme oxydant alors que le Fe²⁺ est à l'état réduit Fe(II) et agit comme réducteur.



On a ainsi un ensemble de couples d'états réduits et oxydés définis par un potentiel dit d'oxydoréduction (E^0 en V défini par rapport au potentiel du couple H⁺/H₂ considéré comme nul). Le potentiel d'oxydoréduction (E_h appelé aussi potentiel rédox) d'un milieu va donc dépendre de l'état d'oxydation des différents couples qui le constituent. Malheureusement si l'on peut mesurer ce potentiel à l'aide d'une électrode, on n'a que rarement accès aux concentrations des différents couples mis en jeux ce qui rend difficile toute extrapolation sur ce potentiel. Ces réactions d'oxydoréduction jouent un grand rôle dans la nature puisque nous les retrouvons dans les réactions de combustion, de corrosion des métaux et dans de nombreux phénomènes biologiques comme la respiration.

Ce paramètre semble avoir été mesuré dans la phase aqueuse des nuages au cours d'une seule campagne par Sinner *et al.*, 1994 avec des valeurs allant de 200 mV à 500 mV mesurées avec une électrode au calomel. Ceci correspond à des potentiels de 440 mV à 740 mV par rapport à une électrode à hydrogène de référence.

2.1.2.4 Conductivité

Les milieux aqueux atmosphériques contiennent un grand nombre d'espèces ioniques en solution. Ces ions vont donc augmenter la conductance de ces milieux, en sachant qu'il existe une corrélation linéaire entre la concentration d'un ion et son influence sur la conductivité (sa conductivité molaire Λ en mS.m².mol⁻¹). La conductivité totale (σ) s'exprime alors comme la somme des conductivités partielles des ions en solution dans un milieu.

$$\sigma = \sum_1^n \Lambda_i \times [X_i]$$

Mesurer la conductivité permet d'avoir en conséquence une estimation de la quantité totale d'ions dans un milieu. A titre d'exemple on peut comparer la conductivité des gouttelettes de nuage à celle d'autres milieux (cf. Tableau 2-3). L'eau des nuages correspond donc à des eaux naturelles de surface peu chargées.

Milieux	σ Conductivité ($\mu\text{S.cm}^{-1}$)
Eau pure	0,055
Eau distillée	0,5
Eau de montagne (sources)	1,0
Eau courante (rivières)	500 à 800
Eau potable (Norme)	<10550
Eau de mer	56000
Saumure	100000
Nuages Apennins (Italie)	47 – 485 (Cini <i>et al.</i> , 2002)
Nuages Los Angeles (USA) (pluie)	6 – 190 (Kawamura <i>et al.</i> , 2001)

Tableau 2-3 : Valeurs de conductivité dans différents milieux.

Les espèces ioniques influençant le plus la conductivité sont H_3O^+ et OH^- , ensuite on trouve SO_4^{2-} , Ca^{2+} puis d'autres ions inorganiques et enfin les ions organiques (acides carboxyliques) (cf. Tableau 2-4).

Ions	Λ ($\text{mS.m}^2.\text{mol}^{-1}$)	Ions	Λ ($\text{mS.m}^2.\text{mol}^{-1}$)
H_3O^+	35,0	K^+	7,4
OH^-	20,0	NH_4^+	7,3
SO_4^{2-}	16,0	NO_3^-	7,1
Ca^{2+}	11,9	Na^+	5,0
Cl^-	7,6	CH_3COO^- (Acétate)	4,1

Tableau 2-4 : Valeurs de conductivité molaire pour les principaux ions des hydrométéores.

2.1.3 Les espèces ioniques

2.1.3.1 Contenu total en ions

Le contenu total en ions (TIC¹) s'exprime comme la concentration molaire en charges ioniques (positives et négatives) d'une solution exprimée généralement en « *équivalent par litre* » (eq.L⁻¹). Ce contenu en ions est généralement considéré comme étant conditionné par le contenu en eau liquide (cf. 2.1.2.1). En effet puisque la part qui peut être solubilisée d'un aérosol est limitée, on peut s'attendre à ce que les phénomènes d'accroissement de la taille des hydrométéores dirigent le contenu total en ions de la phase aqueuse des nuages. Ceci est généralement vérifié (Elbert *et al.*, 2000) même si l'histoire d'un évènement nuageux (cycles d'évaporation et de condensation) ainsi que la nature des aérosols lessivés (influençant la solubilité) peut apporter une variabilité à ces observations.

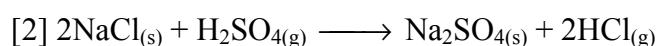
Lieux	TIC (μeq.L ⁻¹)	Références
Cheeka Peak (USA)	972	Vong <i>et al.</i> , 1997
Jungfraujoch (Suisse)	98	Baltensperger <i>et al.</i> , 1998
Jungfraujoch (Suisse)	17 – 477	Poulida <i>et al.</i> , 1998
Krusne Hory plateau (Rep. Tchèque)	2479	Bridges <i>et al.</i> , 2002
Apennins (Italie)	640 – 7476	Cini <i>et al.</i> , 2002
Puy de Dôme (France) (Background)	183	Marinoni <i>et al.</i> , 2004
Puy de Dôme (France) (Anthropique)	610	Marinoni <i>et al.</i> , 2004
Mont Fuji (Japon) (brouillard et pluie)	16 – 848	Watanabe <i>et al.</i> , 2006

Tableau 2-5 : Valeurs de contenu total en ions dans la phase aqueuse des nuages reportées dans la littérature.

2.1.3.2 Les anions inorganiques

2.1.3.2.1 Chlore

La principale source naturelle de chlore est marine. Il est émis sous forme de cristaux de NaCl arrachés à la crête des vagues par le vent. Cette source de particules représente à elle seule 36% des émissions globales d'aérosols (Seinfeld and Pandis, 1998). Ces aérosols peuvent ensuite réagir avec des composés acides tel le H₂SO₄ pour libérer du HCl gazeux (cf. [2]).

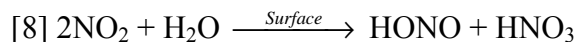
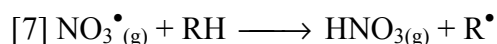
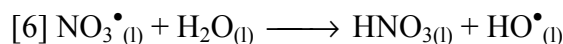
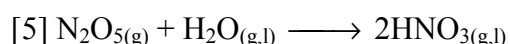
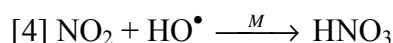
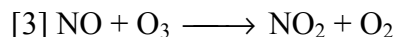


¹ Total Ionic Content

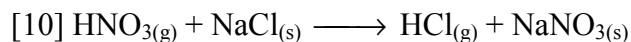
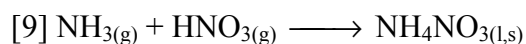
A titre d'exemple Legrand and Delmas, 1988 ont montré que jusqu'à plus de la moitié du chlore des aérosols marin pouvait dégazer au cours du transport vers l'intérieur des terres en Antarctique. Des études menées dans des carottes de glaces prélevées dans les Alpes (col du Dôme) et au Groenland (Summit) montrent que cette libération de HCl gazeux a été plus que doublée depuis les années 1950 en lien directe avec l'accroissement des émissions de gaz troposphériques acides (NO_x et SO_2) liées aux activités humaines (Legrand *et al.*, 2002). Ce HCl gazeux peut ensuite être mené à se condenser à nouveau sur des particules minérales qui constituent des interfaces privilégiées pour ce genre de phénomènes (Sullivan *et al.*, 2007). Il existe aussi d'autres sources naturelles de chlore gazeux imputables au volcanisme (HCl), à l'activité biogénique marine (CH_3Cl), aux combustions de biomasse (KCl) et des sources anthropiques (HCl en provenance des combustibles fossiles et CFC) qui restent toutefois plus faibles que la source marine à l'exception d'événements ponctuels ou de sites sous influence anthropique (Cicerone, 1981 ; McCulloch *et al.*, 1999 ; Shapiro *et al.*, 2007).

2.1.3.2.2 Composés azotés

Les nitrates présents en phase aqueuse atmosphérique dérivent des NO_x (NO et NO_2) gazeux à travers des réactions hétérogènes impliquant le HNO_3 gazeux ou aqueux (cf. [3] à [8]). En effet la solubilité des NO_x étant très faible ils ne sont pas directement transformés en phase aqueuse.



Le HNO_3 gazeux est une molécule qui va se retrouver très rapidement adsorbée sur des particules solides ou dans les hydrométéores où il se dissociera en nitrate (NO_3^-) (cf. [9] et [10]).

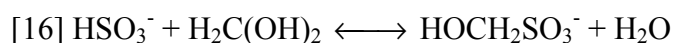
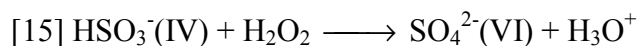


On observe aussi dans les hydrométéores la présence de nitrites (NO_2^-) reliés aux nitrates (NO_3^-) par un équilibre rédox (cf. [11]). De nombreux phénomènes peuvent entraîner la réduction des nitrates en nitrites, notamment des réductions photochimiques (cf. 2.2.2.1) et microbiologiques (présence de nitrate réductase dans le métabolisme). La solubilisation de HONO (acide nitreux) gazeux constitue une autre source potentielle de NO_2^- dans la phase aqueuse des nuages (cf. 2.2.2.2).



2.1.3.2.3 Composés soufrés

Les sulfates peuvent être directement émis sous forme d'aérosols au niveau de la mer en cristaux de Na_2SO_4 . Cependant sa source majeure se situe dans l'oxydation des composés gazeux soufrés, principalement le SO_2 et le DMS (diméthylsulfure (CH_3)₂S) (Chin *et al.*, 1996). Les sources naturelles de ces gaz (biogénique marine pour le DMS et surtout volcanique pour le SO_2) sont largement dominées par le SO_2 émis par les activités industrielles anthropiques (Rohde, 1999). Ces gaz réagissent avec les radicaux HO^\bullet ou sont solubilisés dans les hydrométéores où ils subissent différentes voies d'oxydation relativement bien documentées passant ainsi du S(IV) au S(VI) (cf. [12] à [15]). L'acide sulfurique ainsi formé peut être neutralisé notamment par NH_4^+ pour former des aérosols de sulfate d'ammonium (NH_4HSO_4) et (NH_4)₂ SO_4 (Rohde, 1999). On peut d'ors et déjà noter que dans les hydrométéores le HSO_3^- peut réagir avec le formaldéhyde pour donner de l'acide hydroxyméthanesulfonique (HMSA de formule $\text{HOCH}_2\text{SO}_3\text{H}$) pouvant représenter un réservoir aqueux de S(IV) non négligeable (Rao and Collett, 1995 ; Voisin *et al.*, 2000 ; Ervens *et al.*, 2003(c)) (cf. [16]).



Le diméthylsulfure (DMS) va être progressivement oxydé par les espèces oxydantes de l'atmosphère (surtout les radicaux HO^\bullet) et en prenant part aux cycles de l'ozone et des oxydes d'azote. Ces chaînes d'oxydation vont donner lieu à la formation de l'acide méthane sulfonique (MSA) ($\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$) comme produit terminal.

2.1.3.3 Les cations inorganiques

2.1.3.3.1 Sodium

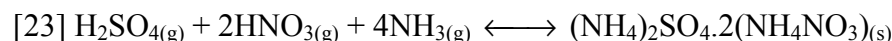
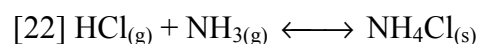
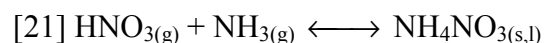
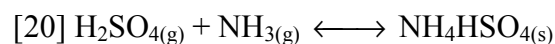
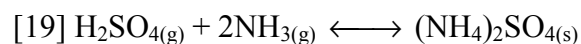
Sa principale source est naturelle. Il est émis de la même manière que le chlore sous forme de cristaux de NaCl (cf. 2.1.3.2.1). Il existe aussi des sources anthropiques lors de la combustion de carburants fossiles (Pacyna, 1986). Celles-ci sont associées à des particules fines et peuvent représenter une part non négligeable du Na^+ de la fraction fine des aérosols (jusqu'à 75% selon le site de prélèvement) (Ooki *et al.*, 2002).

2.1.3.3.2 Ammonium

La principale source d'ammonium dans les hydrométéores provient de l'ammoniac gazeux (NH_3). Ce dernier est principalement issu de la décomposition bactérienne de la matière organique et dans une moindre mesure des feux de biomasse (Langford *et al.*, 1992 ; Bouwman *et al.*, 1997). L'ammoniac gazeux possède une constante de Henry peu élevée (cf. [17]) mais une fois dans la phase aqueuse son équilibre avec l'ammonium favorise en milieu acide son transfert en phase aqueuse (cf. [18]). Ainsi en présence de nuages et aux pH classiques des hydrométéores (< 7) une importante quantité de NH_3 gazeux va passer en phase aqueuse créant ainsi l'une des sources principales d'ammonium des hydrométéores.



L'autre source provient de la solubilisation d'aérosols sur lesquels ont condensés les gaz acides atmosphériques H_2SO_4 , HNO_3 , HCl pour lesquels le NH_3 va agir comme base au cours des processus de condensation (cf. [19] à [23]).



Une dernière source d'ammonium dans l'atmosphère est due à l'élevage qui produit des quantités importantes d'ammoniac et à l'agriculture par l'émission directe de particules de bicarbonate d'ammonium. Celui-ci est utilisé comme fertilisant et est susceptible de se solubiliser dans les hydrométéores. Ces sources peuvent être conséquentes en zones rurales (Walker *et al.*, 2004 ; Walker *et al.*, 2006).

Ainsi l'ammonium agit le plus souvent en neutralisant l'acidité apportée dans les hydrométéores par SO_4^{2-} et NO_3^- .

2.1.3.3.3 Potassium, magnésium et calcium

Ces trois composés ont de nombreuses sources communes. Ils sont tout d'abord émis sous formes de particules d'origine crustale et de nombreuses études se sont attachées à caractériser la composition relative de poussières émises par différents sols. De plus ces composés ont une origine marine sous forme de sels de KCl, MgCl_2 et CaCl_2 . Le calcium et le magnésium peuvent aussi être émis lors de la combustion de carburants fossiles (Pacyna, 1986). Enfin ils peuvent aussi tous les trois être émis par les feux de biomasse (Gaudichet *et al.*, 1995).

2.1.3.4 Le rapport marin

Les aérosols marins ont été largement étudiés et leur composition précise est bien connue. On peut définir un certain nombre de rapports entre les concentrations des différentes espèces les composant (Tableau 2-6 d'après Holland, 1978). Etant donnée la forte solubilité des composés particuliers d'origine marine, l'étude de ces rapports dans la phase aqueuse des nuages devrait permettre de mettre en évidence les sources non océaniques d'un certain nombre de composés ioniques. L'émission de HCl gazeux au cours de l'incorporation de composés acides dans les aérosols impose d'utiliser le sodium pour le calcul de ces équilibres. En effet, pour le sodium les sources marines restent très supérieures quantitativement aux éventuelles sources anthropiques.

	Cl^-/Na^+	K^+/Na^+	$\text{Mg}^{2+}/\text{Na}^+$	$\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$	$\text{SO}_4^{2-}/\text{Na}^+$
Rapport molaire marin	1,167	0,022	0,114	0,020	0,060

Tableau 2-6 : Rapports molaires dans l'aérosol marin de quelques éléments ioniques en utilisant le Na^+ comme référence.

Ainsi on peut calculer le pourcentage d'origine non marine d'un ion donné nss X¹ grâce à la concentration molaire du sodium utilisé comme référence ainsi que grâce à celle de l'ion concerné et le rapport molaire marin des deux ions considérés. Par exemple pour la part non marine du potassium (nss K⁺ en % des K⁺ totaux) on obtient :

$$nssK^+ = \frac{Na^+ \times 0,022}{K^+}$$

NB : les acides carboxyliques présents dans l'atmosphère et plus particulièrement dans les hydrométéores seront abordés dans la partie 2.3 concernant la matière organique.

¹ nss X pour « non sea salt » d'un ion X

2.2 Les sources de radicaux HO•

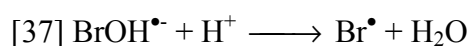
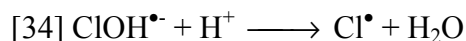
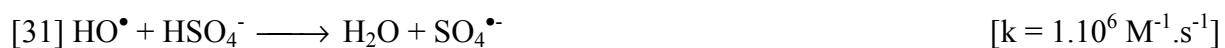
Les espèces possédant le potentiel d'oxydoréduction le plus élevé dans la phase aqueuse des nuages sont le couple formé par l'O₃ et l'O₂ (cf. [24]).



Cependant en terme de réactivité on s'intéresse généralement plus aux espèces radicalaires issues des phénomènes photochimiques prenant place dans les différentes phases de l'atmosphère. Ainsi, le radical HO• est considéré comme étant l'espèce radicalaire la plus réactive dominant la réactivité gazeuse de jour. Les concentrations gazeuses diurnes en radicaux HO• sont estimées à $1,2 \cdot 10^6 \text{ cm}^{-3}$ par Herrmann *et al.*, 2000, $2,5 \cdot 10^6 \text{ cm}^{-3}$ par Warneck, 2003. La constante de Henry des radicaux HO• est assez faible ($K_H = 30 \text{ M.atm}^{-1}$ (Golden *et al.*, 1990 ; Hanson *et al.*, 1992)), mais leur réactivité très importante est susceptible de décaler très fortement cet équilibre en faveur de la phase aqueuse. Selon les conditions, photochimiques notamment, les concentrations en phase aqueuse atmosphérique varient de 10^{-14} à $10^{-12} \text{ mol.L}^{-1}$ environ (Herrmann *et al.*, 2000). En phase aqueuse la réactivité de ces radicaux avec de nombreuses espèces inorganiques et organiques a été largement étudiée.

Il existe aussi de nombreux radicaux inorganiques. Ces radicaux sont essentiellement dans la phase aqueuse des nuages Cl₂•⁻, Br₂•⁻, CO₃•⁻, NO₂•, NO₃•, SO₃•⁻ et SO₄•⁻. Ils dérivent majoritairement directement ou indirectement (Cl₂•⁻ et Br₂•⁻) des réactions entre les ions inorganiques correspondant et le radical HO• (cf. équations [25] à [38] ci-dessous, d'après Buxton *et al.*, 1988 et Neta *et al.*, 1988). Il faut remarquer cependant que leurs constantes cinétiques d'attaque des composés organiques sont généralement plus faibles que celles de HO• envers ces mêmes composés organiques.



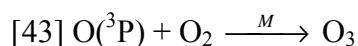
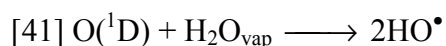


La présence de fortes quantités d'ions inorganiques est donc susceptible de diminuer sensiblement la réactivité de la phase aqueuse des nuages, la réactivité de ces radicaux inorganiques étant beaucoup moins importante et donc moins documentée. Dans la phase gazeuse le radical NO_3^\bullet caractérise la réactivité de nuit. En effet, la journée, la photolyse du NO_3^\bullet gazeux est trop importante pour que cette espèce puisse exister et de plus sa réactivité est moindre que celle des radicaux HO^\bullet (Finlayson-Pitts and Pitts, 2000). En revanche, au couché du soleil le radical NO_3^\bullet constitue un réservoir de réactivité radicalaire transférée depuis les radicaux HO^\bullet . Ainsi, la nuit le radical NO_3^\bullet dominerait la réactivité radicalaire gazeuse du fait des très faibles concentrations en radicaux HO^\bullet . La solubilité de ce radical (NO_3^\bullet) dans les hydrométéores est assez faible ($K_H = 2,0 \text{ M.atm}^{-1}$) et donc la réactivité radicalaire nocturne des hydrométéores devrait être relativement faible. Cependant, il faut noter que la réactivité de ce radical en phase aqueuse est susceptible d'accroître son transfert en phase aqueuse en déplaçant l'équilibre de Henry.

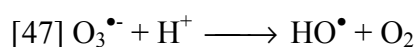
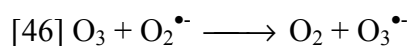
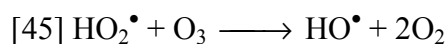
Nous nous intéresserons en conséquence aux diverses sources possibles de ces radicaux HO^\bullet dans la phase aqueuse atmosphérique en commençant par l'ozone, les nitrates, les nitrites, les métaux de transition (bien connus dans les eaux de surface), puis enfin le peroxyde d'hydrogène.

2.2.1 L'ozone

La principale source gazeuse de radicaux HO• provient de la photolyse de l'ozone. Cette photolyse entraîne selon la longueur d'onde la formation d'un atome d'oxygène à différents états d'excitation (état triplet O(³P) ou singulet O(¹D)) (cf. [39] et [40]). Cet atome (O(¹D)) peut alors réagir avec la vapeur d'eau pour donner des radicaux HO• (cf. [41]) ou bien subir une réaction de relaxation (cf. [42] et [43]). En phase aqueuse l'ozone est faiblement soluble ($K_H = 1,2 \cdot 10^{-2} \text{ M.atm}^{-1}$) et sa seule voie de photolyse est celle qui conduit à la formation de O(³P), la source aqueuse de radicaux HO• due à la photolyse de l'ozone est donc négligeable.



Cependant l'ozone peut réagir en phase aqueuse directement avec le radical HO₂• ou avec le radical O₂•⁻ pour donner à terme des radicaux HO• participant ainsi au recyclage des radicaux HO₂• en radicaux HO• (Jans and Hoigné, 2000) (cf. [44] à [47]).

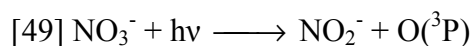


2.2.2 La photochimie des composés azotés

La photochimie aqueuse des composés azotés peut aussi intervenir comme source de radicaux HO^\bullet . Ces composés étant relativement concentrés dans les hydrométéores leur impact sur le budget de production de radicaux n'est potentiellement pas négligeable. Leur rôle notamment dans la formation de phénols nitrés a été largement étudié (Machado and Boule, 1995 ; Harrison *et al.*, 2002).

2.2.2.1 Photolyse des nitrates

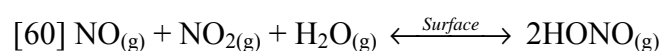
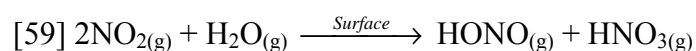
De nombreuses études ont montré la présence de nitrates dans les hydrométéores. A titre d'exemple Marinoni *et al.*, 2004 ont trouvé en moyenne de $34 \mu\text{M}$ à $681 \mu\text{M}$ selon le type de masse d'air dans la phase aqueuse des nuages prélevée au sommet du puy de Dôme. La photolyse des nitrates est connue pour créer des espèces radicalaires susceptibles d'avoir un impact sur la réactivité de la phase aqueuse des nuages (cf. [48] à [50]). Cependant un grand nombre de réactions sont susceptibles de capter ces espèces radicalaires pour les neutraliser (cf. [51] à [58]) ce qui rend l'évaluation de l'efficacité des nitrates sur la réactivité aqueuse difficile. Néanmoins il a été rapporté que la présence d'autres espèces, organiques notamment, comme l'acide formique et le formaldéhyde, susceptibles de réagir avec les espèces radicalaires produites par la photolyse des nitrates, peuvent accroître l'impact de ces derniers sur la réactivité aqueuse (Machado and Boule, 1995 ; Minero *et al.*, 2007).



2.2.2.2 Photolyse des nitrites

L'acide nitreux est un composé surtout étudié en phase gazeuse où il est impliqué dans les cycles des NO_x (cf. [59] et [60]). La phase aqueuse des hydrométéores a été proposée pour expliquer des puits non identifiés de HONO gazeux observés par des études de terrain. Ces disparitions de HONO gazeux étaient corrélées à l'augmentation des concentrations d'acide nitrique aqueuses (Cape *et al.*, 1992 ; Cape *et al.*, 1997). La photolyse du HONO en phase gazeuse est connue pour être une source de radicaux HO^\bullet (cf. [61]) si bien que des phénomènes semblables ne soient peut être pas à exclure dans les hydrométéores.

Etant donnés les pH typiques des hydrométéores l'acide nitreux doit être majoritairement présent sous sa forme ionique, l'ion nitrite (cf. [62]). Les nitrites sont généralement très faiblement concentrés dans les milieux aqueux surtout si on les compare aux nitrates mais ils absorbent la lumière (cf. [62] à [64]) de manière nettement plus efficace que ces derniers, leur coefficient d'extinction molaire à 352 nm est 3 fois supérieur à celui des nitrates à 302 nm (Machado and Boule, 1995).



2.2.3 Les métaux de transition

Les métaux de transition (Aluminium, Cadmium, Chrome, Cobalt, Cuivre, Fer, Manganèse, Nickel, Silicium, Zinc) sont présents dans les gouttelettes de nuage. Ils prennent leur source dans les phénomènes de dissolution des particules d'aérosol dans la phase aqueuse du nuage (Hoffmann *et al.*, 1997 ; Weber *et al.*, 2000 ; Desboeufs *et al.*, 2001 ; Gray *et al.*, 2003 ; Desboeufs *et al.*, 2005 ; Lim *et al.*, 2006 ; Salma and Maenhaut, 2006 ; Valavanidis *et al.*, 2006). Ces particules sont de natures diverses : poussières minérales provenant de l'érosion de la croûte terrestre et dans une moindre mesure des éruptions volcaniques et des résidus de combustion résultant des activités humaines. L'atmosphère constitue, par la présence de ces métaux de transition dans les aérosols et les hydrométéores, une source non négligeable d'éléments trace, souvent limitant de part leurs faibles concentrations pour le développement du phytoplancton dans les milieux aquatiques (Spokes *et al.*, 1994 ; Guerzoni *et al.*, 1997 ; Hanson *et al.*, 2001 ; Spokes *et al.*, 2001 ; Chen *et al.*, 2006).

Les concentrations de ces métaux de transition dans les gouttelettes nuageuses vont dépendre de leur solubilité. Celle-ci est fonction du type de minéraux ou de matrice d'aérosol (organique et inorganique) dans lequel se trouve le métal (Guieu *et al.*, 1997 ; Desboeufs *et al.*, 2001 ; Desboeufs *et al.*, 2005) et donc de la source des aérosols, ainsi que du pH et de la force ionique de la phase aqueuse réceptrice (Millet *et al.*, 1995 ; Chester *et al.*, 1997 ; Hoffmann *et al.*, 1997 ; Chester *et al.*, 2000 ; Chen *et al.*, 2006). Des phénomènes de photosolubilisation ont aussi été mis en évidence, en particulier pour le fer (Hoffmann *et al.*, 1997). Pour le cuivre la solubilité varie de 27,5% m/m¹ pour une matrice crustale à entre 20% m/m et 98,3% m/m pour des aérosols d'origine anthropique. Cette différence est encore plus flagrante pour le zinc qui varie de 11% m/m à 13% m/m dans le cas d'une matrice crustale à entre 19% m/m et 100% m/m pour les émissions anthropiques (Germani and Zoller, 1994 ; Hoffmann *et al.*, 1997 et Desboeufs *et al.*, 2005). Dans les hydrométéores atmosphériques les solubilités sont estimées dans la littérature à : Fe < 40% ; Cu > 27% ; Cd, Mn, Pb et Zn > 50% (Cini *et al.*, 2002).

Les métaux de transition dissous dans les gouttelettes de nuage sont potentiellement impliqués dans de nombreux mécanismes chimiques de la phase aqueuse atmosphérique. Du fait de leur capacité à former des complexes avec l'eau, l'ammonium, les sulfates et de nombreux composés organiques (Pehkonen *et al.*, 1993 ; Zuo, 1995), ils sont amenés à jouer

¹ m/m = w/w correspond à un rapport massique

un rôle de catalyseur dans les cycles d'oxydoréduction d'un grand nombre de composés tels que le soufre (Ziajka *et al.*, 1994) ou les composés organiques (Wu and Deng, 2000 ; Pehkonen *et al.*, 1993). Ce rôle reste cependant discuté pour certains de ces métaux de transition dans les conditions des milieux aqueux naturels (Brandt and Elding, 1998). Les métaux de transition influencent aussi la quantité de radicaux libres présente en phase aqueuse car ils sont supposés réagir très efficacement avec la plupart des agents oxydants et réducteurs présents dans les gouttelettes de nuage comme les radicaux $\text{HO}_2^\bullet/\text{O}_2^{\bullet-}$ ou le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (Sedlak *et al.*, 1997). De plus la photodissociation des complexes formés par les métaux de transition est susceptible d'être une source de radicaux HO^\bullet , $\text{HO}_2^\bullet/\text{O}_2^{\bullet-}$, et de H_2O_2 . Leur réactivité a été aussi identifiée dans la phase particulaire puisque l'oxydation de composés organiques par voie photocatalytique impliquant le fer particulaire contenu dans les aérosols émis par les fumées des centres d'incinération a été mise en évidence (Idriss *et al.*, 1997) ; ainsi que la dégradation de nombreux composés organiques volatils par les métaux contenus en surface d'aérosols de natures différentes (Isidorov *et al.*, 1997). Comme on peut s'y attendre, la réactivité des métaux de transition semble être liée à leur concentration en phase aqueuse, par exemple l'augmentation d'un facteur deux des concentrations en fer dissous dans des eaux de pluie augmentait le taux d'oxydation du S(IV) en S(VI) d'un facteur deux (Clarke and Radojevic, 1987).

2.2.4 La photochimie du fer

2.2.4.1 Sources du fer dans les hydrométéores

Le fer est présent en solution aqueuse sous deux états d'oxydation : sa forme réduite le fer ferreux (Fe(II)) et sa forme oxydée le fer ferrique (Fe(III)). L'atome de fer, sous forme Fe^{2+} et Fe^{3+} , occupe la position centrale d'une structure octaédrique en étant complexé aux molécules d'eau, d'ammoniac, de sulfate ou encore de composés organiques ayant pu influencer sa dissolution.

Parmi les métaux de transition présents dans les gouttelettes de nuage le fer est généralement considéré comme étant le plus abondant après le zinc et le cuivre (source anthropique) et l'aluminium (source terrigène) (François *et al.*, 1995 ; Anderson *et al.*, 1996 ; Guieu *et al.*, 1997 ; Guerzoni *et al.*, 1997 ; Chérif *et al.*, 1998 ; Chester *et al.*, 1999 ; Chester *et al.*, 2000 ; Fernández Espinosa *et al.*, 2001 ; Gatari *et al.*, 2001 ; Ghauri *et al.*, 2001 ; Herut *et al.*, 2001 ; Cini *et al.*, 2002 ; Fernández Espinosa *et al.*, 2002 ; Azimi *et al.*, 2003 ; Braziewicz *et al.*, 2004 ; Ledoux *et al.*, 2004 ; Miranda *et al.*, 2004 ; Desboeufs *et al.*, 2005 ;

Choël *et al.*, 2006 ; Ledoux *et al.*, 2006(b) ; Valavanidis *et al.*, 2006 ; Witt *et al.*, 2006). Cependant, la solubilité du fer depuis la matrice minérale n'est pas la plus importante des métaux de transition (Millet *et al.*, 1995 ; Freydier *et al.*, 1998 ; Cini *et al.*, 2002 ; Deguillaume *et al.*, 2005). Le fer provient d'aérosols de différentes natures, essentiellement des poussières minérales d'origine crustale (Freydier *et al.*, 1998 ; Lafon *et al.*, 2004) mais aussi d'émissions de centres d'incinération, de moteurs à combustion et de multiples opérations industrielles (Desboeufs *et al.*, 2001 ; Fernández Espinosa *et al.*, 2002 ; Desboeufs *et al.*, 2005 ; Ledoux *et al.*, 2006(a) ; Lim *et al.*, 2006). Selon son origine, on le trouve majoritairement dans des particules de taille importante (naturelle, diamètre > 4,9 µm) ou fine (anthropique, diamètre < 0,61 µm) (Fernández Espinosa *et al.*, 2001). Dans les aérosols le fer est le plus souvent piégé dans une structure cristalline d'aluminosilicate (sous forme de Fe(II) et de Fe(III)) et d'oxydes de fer tels l'hématite (Fe₂O₃), la magnétite (Fe₃O₄) et la goethite (α-FeOOH) (Flynn, 1984 ; Pehkonen *et al.*, 1993 ; Hoffmann *et al.*, 1996 ; Hoffmann *et al.*, 1997 ; Weber *et al.*, 2000 ; Kopcewicz and Kopcewicz 2001 ; Lafon *et al.*, 2004 ; Ledoux *et al.*, 2006(a)). Selon le type d'aérosol les solubilités peuvent varier de façon très importante. En effet si pour les particules d'origine crustale elles sont assez faibles (< 2% m/m selon Desboeufs *et al.*, 2005), elles sont au contraire relativement plus élevées pour des aérosols d'origine anthropique (de moins de 2% m/m à 36% m/m selon Hoffmann *et al.*, 1997 et Desboeufs *et al.*, 2005). Il est généralement admis que cette solubilité augmente avec la diminution du pH de la phase aqueuse réceptrice (Millet *et al.*, 1995 ; Brüggemann *et al.*, 2005). Il s'agit cependant le plus souvent de la simple constatation que les concentrations en fer mesurées dans les hydrométéores augmentent avec la diminution du pH. Ceci peut traduire aussi un changement de la nature des aérosols due à un effet de source. Des phénomènes de solubilisation du Fe(III) particulière ont été mis en évidence par l'intermédiaire des processus photorédox dans des complexes de surface entre le Fe(III) et des composés dérivés halogénés de l'acide acétique (Pekkonen *et al.*, 1995).

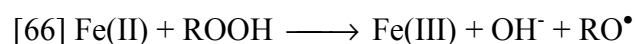
2.2.4.2 Réduction photochimique du fer

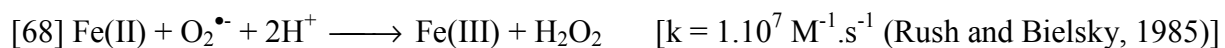
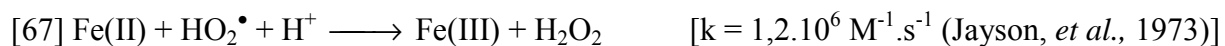
La réduction photochimique des complexes aqueux du Fe(III) (principalement Fe(OH)²⁺) et la photolyse des complexes avec des molécules organiques sont reconnues comme étant des sources de radicaux HO[•], HO₂[•]/O₂^{•-} et de H₂O₂ en milieu aqueux susceptible de dégrader la matière organique (Weschler *et al.*, 1986 ; Faust and Hoigné, 1990 ; Pehkonen *et al.*, 1993 ; Siefert *et al.*, 1994 ; Zuo, 1995 ; Zuo and Deng, 1997 ; Arakaki and Faust, 1998 ; Wu and Deng, 2000 ; Franch *et al.*, 2004 ; Zuo and Zhan, 2005). Ce processus de

photooxydoréduction des complexes de fer intervient aussi potentiellement dans de nombreux phénomènes de la chimie troposphérique. Ainsi il joue un rôle dans les phénomènes d'oxydation du S(IV) en S(VI) (Clarke and Radojevic, 1987 ; Turšič *et al.*, 2001 ; Podkrajšek *et al.*, 2002). La réduction photochimique du Fe(III) en présence d'acides organiques tels que les acides acétique et succinique pourrait aussi induire l'oxydation du Cr(III) en Cr(VI) dans les milieux atmosphériques (Zhang, 2000). Ces différentes études sont conduites en laboratoire sur des solutions modèles : $\text{Fe}(\text{OH})^{2+}$ (Faust and Hoigné, 1990), des complexes fer-oxalate (Zuo, 1995 ; Zuo and Deng, 1997 ; Zuo and Zhan, 2005) ou des suspensions d'aérosols enrichies en acides organiques (Siefert *et al.*, 1994 ; Arakaki *et al.*, 2006). De plus Arakaki and Faust, 1998 observent dans de l'eau de nuage irradiée à 313 nm une augmentation de concentrations en Fe(II) associée à une production de H_2O_2 . Cependant Vilgé-Ritter *et al.*, 1999 ont montré que les complexes de Fe(III) avec la matière organique issue de rivière, perdaient leur photoréactivité stabilisant ainsi le fer sous sa forme ferrique. En effet si la présence dominante dans les hydrométéores des complexes de Fe(III)-oxalate a été calculée par Schwanz *et al.*, 1998, celle-ci dépend toutefois du pH, du ratio Fe(III)/oxalate, de la présence d'autres complexants éventuels du Fe(III) et de l'oxalate puisque ce calcul ne tient compte que des complexes avec les molécules d'eau et l'oxalate. De plus Arakaki *et al.*, 1995 ont montré que le complexe fer-oxalate n'est pas la source de peroxyde d'hydrogène dans l'eau de nuage et l'attribuent à un autre chromophore non identifié. A travers cette bibliographie sur la photoréduction du Fe(III) et la production de radicaux libres qui en résulte on voit que les résultats sont assez contradictoires en terme d'efficacité.

2.2.4.3 Oxydation du fer

D'après le diagramme (pH/ E_h) de Pourbaix de stabilité du fer en milieu aqueux, le Fe(II) devrait dominer dans un milieu comme les gouttelettes de nuage, le $[\text{Fe}(\text{OH})^{2+}]$ (Fe(III) en solution) ne devant représenter que moins de 5% du fer total dissout du fait de sa très faible solubilité dans ces gammes de pH et de E_h (Pourbaix, 1963). Cependant le Fe^{2+} en solution est connu pour s'oxyder rapidement en présence d'oxygène ou sous l'action d'oxydants tels que le H_2O_2 (réaction de Fenton), des hydroperoxydes organiques (méthyle et éthyle) (Weschler *et al.*, 1986 ; Chevallier *et al.*, 2004) ou de radicaux $\text{HO}_2^\bullet/\text{O}_2^{\bullet-}$, réactions qui sont elles-mêmes sources éventuelles de radicaux HO^\bullet (cf. [65] à [68]).





Arakaki and Faust, 1998 associent la production de radicaux HO^\bullet dans de l'eau de nuage irradiée à 313 nm à la réaction de Fenton entre le Fe(II) et le H_2O_2 . Le Fe(II) peut aussi être amené à catalyser la réduction des radicaux peroxyde organiques en composés hydroperoxydes (Stemmler and Von Gunten, 2000(b)).

Si l'on prend en compte la réduction photochimique du Fe(III) et des complexes qui y sont associés, évoquée précédemment, on peut supposer que le fer intervient dans des cycles d'oxydoréduction très rapides qui peuvent sous l'influence de la lumière solaire être une source non négligeable d'espèces oxydantes (HO^\bullet) dans un milieu aqueux comme celui des nuages.

2.2.4.4 Mesures de terrain

Afin de mettre en évidence ces phénomènes de photooxydoréduction impliquant le fer et d'en connaître l'efficacité, de nombreuses études se sont intéressées au rapport existant entre les concentrations des différents états d'oxydation du fer dans les gouttelettes de nuage. Malheureusement il n'est pas évident de savoir quelles espèces de fer sont mesurées par les différentes techniques employées (incluant filtration et mesure du fer lui-même). En effet si le fer à ses deux états d'oxydation est présent dans les gouttelettes des nuages sous forme « libre » (complexé avec des molécules d'eau), il est aussi complexé avec des molécules organiques et inorganiques. Il est également présent sous forme d'agrégats colloïdaux, complexé à des macromolécules organiques, ainsi que piégé dans les diverses matrices aérosols partiellement solubilisées et de tailles très différentes. Si l'on tient compte de sa solubilité théorique dans les gammes de pH et de E_h du nuage, le fer devrait prédominer sous forme de complexes organiques et de colloïdes au vu des concentrations trouvées dans les hydrométéores (cf. Tableau 2-7) (Mill, 1980). Ces difficultés sont bien mises en évidence par Erel *et al.*, 1993 qui mesurent des concentrations parfois sensiblement différentes dans un même échantillon selon la technique d'analyse utilisée.

Lieux	Valeurs (µM)	Techniques d'analyse	Références
Zürich (Suisse) (brouillard)	Fe(II) : 0,2 – 200,0	Complexant (ferrocine) + Spectrophotométrie	Behra and Sigg, 1990
Los Angeles (USA)	Fe(II) : 1,5 – 4,9 Fe(III) : 0,6 – 1,4	Spectrophotométrie + complexant (DPKBH ¹)	Pehkonen <i>et al.</i> , 1992
Henninger (USA)	Fe(II) : 0,9 – 13,1 Fe(III) : 2,0 – 6,7	Complexant (ferrocine/DPKBH) + Spectrophotométrie	Erel <i>et al.</i> , 1993
San Pedro (USA)	Fe(II) : 0,3 – 18,7 Fe(III) : 0,0 – 4,2	Complexant (ferrocine/DPKBH) + Spectrophotométrie	Erel <i>et al.</i> , 1993
Delaware (USA)	Fe(II) : 0,4 – 0,7	Complexant (ferrocine/DPKBH) + Spectrophotométrie	Erel <i>et al.</i> , 1993
Bakersfield (USA)	Fe(II) : 0,1 – 0,3	Complexant (ferrocine/DPKBH) + Spectrophotométrie	Erel <i>et al.</i> , 1993
San Pietro Capofiume (Italie) (Brouillard)	Fe(II) : 0,3 – 10,5 Fe(III) : 0,2 – 4,3		Schwanz <i>et al.</i> , 1998
Rocheuses (USA)	Fe(Total) : 0,2 – 36,4	Absorption atomique	Xu <i>et al.</i> , 1999
Kleiner Feldberg (Allemagne)	Fe(II) : 0,1 – 0,9 Fe(III) : 0,1 – 0,7	Séparation colonne + complexant (ferrocine) + Spectrophotométrie	Deutsch <i>et al.</i> , 2001
Apennins (Italie)	Fe(Total) : 0,5 – 5,4	Absorption atomique	Cini <i>et al.</i> , 2002

Tableau 2-7 : Valeurs de fer (et spéciation) dans les nuages reportées dans la littérature.

La mise en évidence de ces phénomènes photochimiques passe par la mesure dans les hydrométéores de l'état d'oxydation du fer. Schwanz *et al.*, 1998 ont trouvé dans les brouillards des concentrations importantes de Fe(II) la nuit, même si elles sont relativement plus élevées le jour. Ce résultat doit être cependant pris avec précaution puisque la quantité de fer total diminue de la nuit au jour au cours de cet événement, même en tenant compte de la LWC, ce qui suggère une modification de la composition chimique du brouillard au cours du temps. Sinner *et al.*, 1994 trouvent de 1% à 60% de Fe(II) en journée suggérant que les phénomènes de photoréduction n'impliquent pas la totalité du fer mesuré dans leurs événements nuageux. Erel *et al.*, 1993 ont trouvé dans les nuages des concentrations de Fe(II) importantes même la nuit. Aucun cycle de spéciation du fer n'est mis en évidence et il faut

¹ Di-2-pyridyl cétone benzoylhydrazone

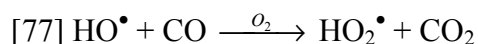
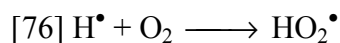
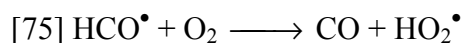
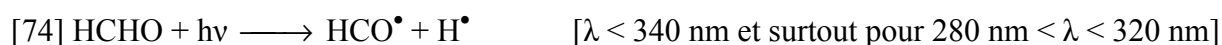
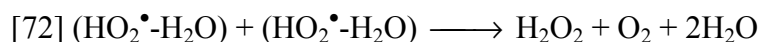
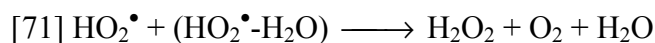
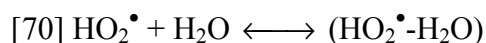
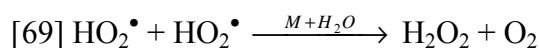
noter des différences assez importantes entre les concentrations mesurées selon la technique analytique utilisée pour une même espèce. Ceci suggère, comme évoqué précédemment que toutes les techniques analytiques ne mesurent pas les mêmes espèces de fer complexé. Pehkonen *et al.*, 1992 ont mesuré en moyenne que 74% du fer était à l'état réduit dans l'eau nuageuse mais n'apportent aucune information sur un éventuel cycle. Deutsch *et al.*, 2001 observent en nuage une proportion moyenne de Fe(II) de 50% la nuit et de 60% le jour par rapport au Fe(Total). Behra and Sigg, 1990 observent dans les brouillards un cycle peu net avec des concentrations en fer très importantes par rapport au reste de la littérature et encore une fois des concentrations en Fe(II) conséquentes la nuit. Sedlak *et al.*, 1997 observent dans les nuages des cycles photochimiques du fer mais seulement dans 2 des 5 événements analysés.

Ces résultats montrent que les cycles photochimiques du fer dans les hydrométéores ne sont pas aussi prononcés que ceux prédits par les modèles. Ainsi Deguillaume *et al.*, 2004 prédisent une proportion de Fe(II) allant de 0% la nuit à 90% le jour illustrant un cycle beaucoup plus net que celui observé dans les études de terrain. De même, Ervens *et al.*, 2003(b) font état de l'importance des complexes fer-oxalate ainsi qu'une surprenante dominance de l'état d'oxydation Fe(III). Ces résultats montrent qu'un certain nombre d'interactions entre le fer et des éléments « stabilisants » n'est pas pris en compte dans ces modèles.

2.2.5 La photochimie du peroxyde d'hydrogène

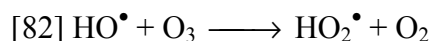
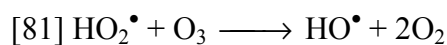
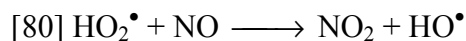
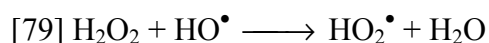
2.2.5.1 Sources gazeuses

Dans la phase gazeuse, le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 est formé par la réaction des radicaux hydroperoxydes HO_2^\bullet sur eux-mêmes ou avec les hydrates de ces mêmes radicaux (cf. [69] à [72]). Ces radicaux sont eux-mêmes les produits photochimiques de réactions faisant intervenir l'ozone ou des composés organiques volatils (cf. [73] à [77]). Ainsi, Sauer *et al.*, 1999 ont montré une production de H_2O_2 suite à l'ozonolyse d'isoprènes et d'alcènes et que cette production était accrue en conditions humides. Il est généralement admis que puisque les sources de H_2O_2 sont liées à l'activité photochimique, les concentrations gazeuses devraient être plus fortes le jour que la nuit (Sakugawa *et al.*, 1990).



2.2.5.2 Puits gazeux

Les principaux puits de H_2O_2 en phase gazeuse sont sa photolyse ($\lambda < 290 \text{ nm}$) (cf. [78]), la réaction avec les radicaux HO^\bullet (cf. [79]), ainsi que des processus hétérogènes de dépôt humide. En effet le H_2O_2 gazeux est une espèce relativement soluble ($K_H = 1,0 \cdot 10^5 \text{ M} \cdot \text{atm}^{-1}$ (Zhou and Lee, 1992 ; O'Sullivan *et al.*, 1996)) qui constitue potentiellement une source non négligeable de H_2O_2 aqueux dans l'eau atmosphérique, ceci d'autant plus que cette solubilité pourrait être accrue dans une phase aqueuse chargée en ions, notamment en ions ammonium (Chung *et al.*, 2005). Ainsi l'effet puit des nuages sur les concentrations gazeuses de H_2O_2 a été modélisé et observé lors de campagnes aéroportées (Kim *et al.*, 2006). De plus il faut noter que toutes les réactions entraînant la consommation de radicaux HO_2^\bullet en phase gazeuse (cf. [80] à [82]) sont susceptibles d'avoir un impact sur les concentrations gazeuses de H_2O_2 .



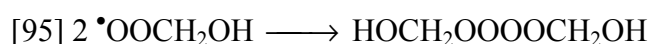
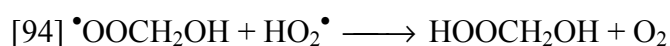
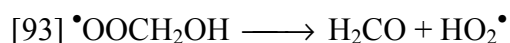
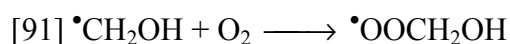
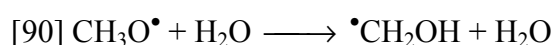
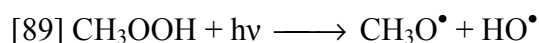
2.2.5.3 Sources aqueuses

Au pH des hydrométéores le H_2O_2 est la forme stable des deux couples acide/base dans lesquels il intervient (cf. [83] et [84]). En phase aqueuse le H_2O_2 prend entre autre sa source dans le transfert de masse de la phase gazeuse aux gouttelettes de nuage soit directement du H_2O_2 gazeux ou de ses précurseurs (cf. [86] et [87]), les radicaux HO_2^\bullet (ou O_2^\bullet selon le pH, cf. [85]). Il faut noter que la solubilité de H_2O_2 est plus grande que celle des composés radicalaires gazeux notamment ceux qui pourraient lui donner naissance en phase aqueuse (HO_2^\bullet : $K_H = 1 \text{ à } 3.10^3 \text{ M.atm}^{-1}$ (Schwartz, 1984) ; HO^\bullet : $K_H = 30 \text{ M.atm}^{-1}$ (Golden *et al.*, 1990 ; Hanson *et al.*, 1992)). Cependant, l'importante réactivité de ces espèces radicalaires est susceptible de déplacer les équilibres de transfert de phase et d'accroître considérablement leurs concentrations en phase aqueuse. L'oxydation des métaux de transition par des espèces radicalaires entraîne la formation de H_2O_2 (cf. [88]). De nombreuses études ont porté sur différentes sources aqueuses de H_2O_2 dues à la photochimie. Ces sources proviendraient des nombreux composés absorbant les rayonnements solaires que l'on peut trouver dans la phase aqueuse des nuages, capables d'initier des réactions dont résulte la formation de H_2O_2 . Le complexe fer-oxalate a souvent été utilisé comme modèle pour représenter l'action des complexes organiques de fer dans la phase aqueuse des nuages (Zuo, 1995 ; Zuo and Deng, 1997 ; Zuo and Zhan, 2005). Même si le rôle de ce complexe est controversé (Arakaki *et al.*, 1995) l'augmentation des concentrations en Fe(II) associée à une production de H_2O_2 a été observée dans de l'eau de nuage irradiée à 313 nm (Arakaki and Faust, 1998). La photolyse de composés de type phénolique à bas pH (< 4) (Anastasio *et al.*, 1997) ainsi que la photolyse de composés de type biacétyl (Faust *et al.*, 1997) ont aussi été proposées comme source de H_2O_2 dans l'eau atmosphérique. Des suspensions aqueuses d'aérosols irradiées en laboratoire ($\lambda = 313, 334 \text{ et } 366 \text{ nm}$) ont montré une production de H_2O_2 et de radicaux HO^\bullet (Anastasio and Jordan, 2004) de même que des échantillons de nuage (Arakaki *et al.*, 1995). Il a aussi été mentionné une source liée aux éclairs durant les

tempêtes qui pourrait être due à l'ionisation de l'air ou au flash lumineux de l'éclair (Zuo and Deng, 1999).



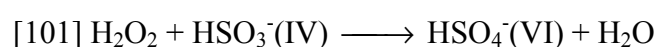
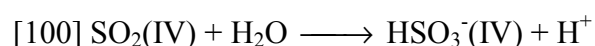
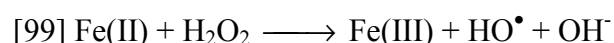
Une autre voie dérive de la photolyse des peroxydes organiques et notamment du méthyl-hydropéroxyde présent dans les hydrométéores. Cette photolyse est source de radicaux HO^{\bullet} (cf. [89]) et entraîne la formation de formaldéhyde et de radicaux HO_2^{\bullet} (cf. [90] à [93]) qui sont sources de H_2O_2 . Elle peut ensuite donner directement du H_2O_2 et de l'acide formique (cf. [95] et [96]) ou d'autres composés organiques (cf. [94]) (Monod *et al.*, 2007).



2.2.5.4 Puits aqueux

Les puits en phase aqueuse sont principalement liés à sa photolyse ($\lambda < 380 \text{ nm}$) et à sa réaction avec les radicaux HO^{\bullet} (cf. [97] et [98]). Cependant, les réactions avec le fer de type Fenton (cf. [99]) peuvent participer à la disparition du H_2O_2 de la phase aqueuse. De plus, la présence de grandes quantités de composés d'origine anthropique dans les hydrométéores semble avoir un impact sur les concentrations de H_2O_2 . En effet Deng and Zuo, 1999 remarquent une diminution des concentrations de H_2O_2 dans la pluie corrélée à de fortes concentrations en SO_4^{2-} et NO_3^- . Sauer *et al.*, 1996 ont trouvés une anticorrélation entre H_2O_2 et S(IV) dans des échantillons aqueux atmosphérique (pluie et nuage). Ceci peut s'expliquer notamment par les phénomènes d'oxydation du S(IV) en S(VI) (cf. [100] et [101]) dans

lesquels le rôle du H_2O_2 (directe ou indirecte en tant que source de HO^\bullet) semble très important aux pH typiques des hydrométéores (Sauer *et al.*, 1996 ; Seinfeld and Pandis, 1998). La réaction du H_2O_2 avec le formaldéhyde (ou le méthanediol, sa forme hydratée en phase aqueuse) peut donner de l'hydroxyméthyl hydroperoxyde (HMHP de formule $\text{HOCH}_2\text{O}_2\text{H}$), un peroxyde organique (Zhou and Lee, 1992).



2.2.5.5 Mesures de terrain

Les mesures en phase gazeuse montrent des concentrations en H_2O_2 allant de quelques pptv¹ à quelques dixièmes de ppbv avec des valeurs maximales de l'ordre de 2 ppbv même si des valeurs allant jusqu'à 10 ppbv sont rapportées (Lee *et al.*, 2000). Ainsi François *et al.*, 2005 ont mesuré de 9 pptv à 174 pptv avec une corrélation négative par rapport aux concentrations en NO et NO₂. Sedlak *et al.*, 1997 ont mesuré des concentrations allant de 0,02 ppbv à 0,20 ppbv. Laj *et al.*, 2001 ont trouvé au sommet du puy de Dôme de 0,1 ppbv à 0,6 ppbv dans la phase interstitielle des nuages. Sauer *et al.*, 2003 ont mesuré des concentrations allant de 0 ppbv à 1,2 ppbv avec un cycle diurne présentant une forte augmentation en début de journée. Takami *et al.*, 2003 ont observé des concentrations de 0 ppbv à 1,6 ppbv présentant une forte corrélation avec l'ensoleillement même si d'autres sources attribuées au transport des masses d'air sont observables. Ceci renseigne sur le temps de vie du H_2O_2 gazeux de l'ordre de 24 heures qui peut donc subir un transport au niveau méso échelle (Finlayson-Pitts and Pitts, 2000). Valverde-Canossa *et al.*, 2005 ont mesuré des concentrations allant de 0 ppbv à 0,13 ppbv avec un cycle diurne observé conjointement en phase aqueuse. En antarctique les concentrations gazeuses de H_2O_2 vont de 0,03 ppbv à 0,11 ppbv pendant la nuit polaire et de 0,03 ppbv à 0,91 ppbv pendant la période ensoleillée (Riedel *et al.*, 2000). De manière générale les concentrations gazeuses en peroxydes organiques sont plus faibles (quelques dixièmes de ppbv) (Sakugawa *et al.*, 1990) ou du même ordre de grandeur (quelques ppbv) en conditions sous forte influence photochimique (Hewitt and Kok, 1991).

¹ parties par trion en volume

En phase aqueuse il a été observé des concentrations allant de quelques dixièmes de μM jusqu'à plusieurs dizaines de μM (cf. Tableau 2-8). Il faut noter que certaines études ont mis en évidence des cycles diurnes même s'ils ne sont pas toujours très nets (Valverde-Canossa *et al.*, 2005). Les concentrations aqueuses en peroxydes organiques sont généralement plus faibles (quelques dixièmes de μM) (Sakugawa *et al.*, 1990 ; Sauer *et al.*, 1996), leur stabilité étant fortement liée au pH et aux phénomènes d'oxydation du S(IV) en S(VI).

Lieux	Valeurs (μM)	Techniques d'analyse	Références
Los Angeles (USA)	1 – 167 (nuit)		Richard, 1995
La Jolla Peak (USA)	13 – 72	POPHA ¹ + Spectrophotométrie	Rao and Collett, 1995
Angora Peak (USA)	7 – 40	POPHA + Spectrophotométrie	Rao and Collett, 1995
Mont Michell (USA)	8 – 103	POPHA + Spectrophotométrie	Rao and Collett, 1995
Whiteface (USA)	4 – 20	POPHA + Spectrophotométrie	Rao and Collett, 1995
Bakersfield (USA)	0,3 – 24,2	POPHA + Spectrophotométrie	Rao and Collett, 1995
Kleiner Feldberg (Allemagne)	0,2 – 3,2	HPLC	Sauer <i>et al.</i> , 1996
Miami (USA) (pluie)	0,3 – 38,6	DPD ² + peroxydase (Spectrophotométrie)	Deng and Zuo, 1999
Wilmington (USA) (pluie)	4 – 22	Fluorescence	Avery <i>et al.</i> , 2001
Kleiner Feldberg (Allemagne)	0,3 – 23,7	HPLC	Deutsch <i>et al.</i> , 2001
Puy de Dôme (France)	1 – 20		Laj <i>et al.</i> , 2001
Forêt de Thuringe (Allemagne)	0,0 – 13,6	HPLC	Valverde-Canossa <i>et al.</i> , 2005

Tableau 2-8 : Valeurs de H_2O_2 dans la phase aqueuse des nuages reportées dans la littérature.

¹ Acide para-hydroxyphénylacétique

² N,N-diéthyl-p-phénylènediamine

2.2.6 Bilan des sources de radicaux HO•

Nous avons vu que les sources et puits de radicaux HO• dans la phase aqueuse des nuages sont nombreux. Une analyse de l'importance de telle ou telle voie par rapport aux autres ne peut s'effectuer que grâce à une approche par modélisation en partant du principe que les paramètres puisse être établis de façon pertinente à partir des données de terrain et des études de laboratoires existantes. Afin d'étudier les processus chimiques dans le détail, des scénarios chimiques idéalisés ont été développés dans le cadre du sous projet CMD (Chemical Mechanism Development) de EUROTRAC-2 afin de tester la chimie pour différentes conditions environnementales. Les processus microphysiques sont ici extrêmement simplifiés (nuage au sol durant 48 heures, taille de gouttes fixée, contenu en eau fixe).

Les premiers travaux de Herrmann *et al.*, 2000 à l'aide du modèle CAPRAM2.3 montrent que quel que soit le scénario chimique envisagé (marin, rural ou anthropique) une source majoritaire de radicaux HO• en phase aqueuse serait le transfert de masse depuis la phase gazeuse (à hauteur de plus de 70%). Pour les scénarios marins les sources suivantes seraient la photolyse du H₂O₂ et les réactions impliquant l'O₃. Pour des scénarios chimiques sous influence anthropique, les réactions entre le H₂O₂ et les métaux de transition seraient la deuxième source de radicaux HO•. Concernant les puits de ces radicaux, leurs simulations montrent que l'oxydation des composés organiques (formaldéhyde, acide formique notamment) sont les voies majoritaires de destruction.

Les travaux récents de Ervens *et al.*, 2003(b) sur le modèle CAPRAM2.4 et les travaux de Herrmann *et al.*, 2005 sur le modèle CAPRAM3.0 présentent des résultats moins tranchés. Le mécanisme CAPRAM2.4 est un mécanisme révisé et mis à jour du CAPRAM2.3 avec une chimie des composés organiques et des métaux de transition plus détaillée. Le mécanisme CAPRAM3.0 est la dernière version du mécanisme chimique en phase aqueuse développé à l'IfT de Leipzig. Il prend en compte la chimie des composés organiques jusqu'au C₅. Il se différencie des observations du CAPRAM2.3 avec pour les sources de radicaux HO• une contribution significative (du même ordre de grandeur que pour le transfert de masse) des réactions de type Fenton entre le fer et le H₂O₂ et de la photolyse aqueuse du H₂O₂ notamment pour les scénarios chimiques continentaux (rural et anthropique). Concernant la dernière version du mécanisme CAPRAM3.0 décrivant en détail les processus d'oxydation de la matière organique, les voies de destruction du radical HO• sont plus importantes en terme de

flux mais la contribution des composés organiques en C1 et C2 reste majoritaires (environ 80%).

En comparaison, le modèle M2C2 développé au LaMP a permis d'effectuer des études numériques sur des scénarios chimiques similaires. Le mécanisme chimique possède des différences par rapport au mécanisme CAPRAM, notamment au niveau de la chimie des métaux de transition qui y est plus explicite et au niveau de la chimie des composés organiques qui va jusqu'au C₂. L'étude numérique de Deguillaume *et al.*, 2004 met en avant des différences par rapport aux études conduites à l'aide du modèle CAPRAM. Tout d'abord la photolyse des complexes de Fe(III) est plus importante comme source de radicaux HO• avec notamment une contribution majoritaire pour le scénario anthropique où les concentrations en fer sont optimales. De plus, la contribution de la réaction de Fenton est la plus importante dans le cas rural où les concentrations en H₂O₂ sont plus importantes. Cette dernière réaction reste toutefois sujette à de nombreuses incertitudes comme montré par Deguillaume *et al.*, 2005. Des simulations sur les différentes voies réactionnelles possibles soulignent son impact sur la chimie de la goutte et notamment sur le bilan des radicaux HO•.

L'évaluation de l'importance relative des différentes sources de radicaux HO• est donc tributaire des modifications chimiques des différents scénarios envisagés et reste dépendante de l'établissement des paramètres chimiques inclus dans les modèles. Ainsi, la non prise en compte des interactions entre les métaux de transition et la matière organique macromoléculaire par les différents modèles est susceptible de modifier de manière conséquente les résultats obtenus. Toutefois cette approche reste primordiale afin d'aider à l'interprétation des mesures de terrain et de laboratoire qui alimentent en données ces modèles numériques.

2.3 La matière organique

2.3.1 Les espèces organiques dans les nuages

Plusieurs milliers de composés organiques différents ont été identifiés dans l'atmosphère, témoignant ainsi de leur extrême diversité. Les composés organiques se retrouvant en solution dans les hydrométéores proviennent de la matière organique solubilisée à partir des aérosols (WSOC¹) ainsi que de la mise en solution des espèces organiques volatiles présentes dans la phase gazeuse interstitielle (VOC²). La caractérisation de ces différents composés est assez limitée du fait de leur diversité en terme de taille (longueur de la chaîne carbonée) ou de groupement fonctionnel impliquant des concentrations relativement faibles.

2.3.1.1 Le carbone organique total

Le carbone organique présent dans les gouttelettes de nuage est difficile à caractériser que ce soit d'un point de vue quantitatif ou qualitatif. En effet d'un point de vue quantitatif il est difficile de savoir si l'on mesure les espèces organiques solubilisées ou celles présentes sur les aérosols lessivés par les hydrométéores. Le diamètre de porosité des filtres qui peuvent être utilisés pour ces aérosols n'est qu'au mieux de 0,20 µm ce qui ne peut assurer une filtration complète. On parlera donc plutôt de carbone organique total (TOC³) que de carbone organique dissous (DOC⁴) même si l'on peut penser qu'une majeure partie des composés organiques se trouve sous forme solubilisée (plus de 90% dans les pluies selon Sempéré and Kawamura, 1996). Généralement les valeurs observées dans les hydrométéores sont de l'ordre de 1 à 20 mg de carbone par litre (Erel *et al.*, 1993 ; Sempéré and Kawamura, 1996). L'aspect qualitatif est lui contraint par la diversité des espèces à analyser et donc des techniques à déployer pour pouvoir les caractériser, ceci d'autant plus que les concentrations sont souvent extrêmement faibles dans les hydrométéores.

Parmi ces espèces organiques solubilisées des aérosols et de la phase gazeuse ont été mis en évidence des composés aromatiques, des alcènes, des groupements hydroxyles (alcools), alkoxyles (éthers), carbonyles (aldéhydes et cétones), imines, carboxyliques (mono-, di- et poly-) et des chaînes alkyles (Decesari *et al.*, 2001 ; Decesari *et al.*, 2002 ;

¹ Water Soluble Organic Compounds

² Volatile Organic Compounds

³ Total Organic Carbon

⁴ Dissolved Organic Carbon

Fuzzi *et al.*, 2002 ; Decesari *et al.*, 2005 ; Mancinelli *et al.*, 2007). Dans les brouillards, Herckes *et al.*, 2002 ont mis en évidence que seul en moyenne 20% du carbone organique total (TOC) était identifié par GC/MS. Ils suspectent que 30% de ce même carbone organique soit sous forme d'acides carboxyliques et d'aldéhydes de faible masse moléculaire (entre 10% et 20% pour les seuls acides formique, acétique et formaldéhyde, résultat retrouvé dans les pluies de Los Angeles par Kawamura *et al.*, 2001). De manière générale la solubilité décroît avec l'accroissement de la longueur de la chaîne carbonée. Les alcanes détectés dans ces mêmes brouillards sont des molécules en C₁₄ à C₃₆ dont 10% sont solubilisées. Un certain nombre d'hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) de 2 à 7 cycles de carbone a été identifié. Un grand nombre d'acides alcanoïques en C₉ à C₂₈ a aussi été mis en évidence. Ces trois dernières catégories (alcanes en C₁₄ à C₃₆, HAP de 2 à 7 cycles de carbone et acides alcanoïques en C₉ à C₂₈) représenteraient dans les brouillards moins de 1% du carbone organique total. Dans les nuages, les acides carboxyliques représentent généralement en moyenne près de 10% du carbone organique (3% pour les acides dicarboxyliques dans les pluies pour Sempéré and Kawamura, 1996 ; 7% à 15% pour Khwaja *et al.*, 1995 ; 5% à 22% selon Löflund *et al.*, 2002 ; 5% à 30% pour Ervens *et al.*, 2003(c) ; en moyenne 11% (si l'on normalise à la masse de carbone) pour Marinoni *et al.*, 2004 ; 10,6% à 21,8% pour Van Pinxteren *et al.*, 2005).

2.3.1.2 Les acides carboxyliques

2.3.1.2.1 Généralités

On les trouve de manière abondante dans l'environnement notamment sous forme d'acides gras (lipides). Ils sont très importants pour la vie puisque l'un des éléments fondamentaux des protéines utilisées et synthétisées par les cellules vivantes sont les acides aminés, eux-mêmes constitués d'un groupement carboxylique et d'une fonction amine. La fonction carboxyle possède des atomes d'oxygène qui constituent des sites nucléophiles et des bases de Lewis, un atome de carbone électrophile et un atome d'hydrogène électrophile lui aussi mais présentant en plus une caractéristique acide. La fonction carboxyle est fortement polaire et est à la fois donneur et accepteur de liaisons hydrogène. De ce fait les acides carboxyliques forment des liaisons hydrogène avec les solvants polaires (eau, alcool) et des dimères avec les autres acides carboxyliques. Ils sont aussi en conséquence très solubles dans l'eau. En solution dans l'eau, l'acide carboxylique se dissocie en ion carboxylate en fonction de son pKa. Les acides carboxyliques sont produits par l'oxydation des alcools, des aldéhydes, des alcènes, des alcanes et l'hydrolyse des esters.

2.3.1.2.2 Dans l'atmosphère

On les retrouve dans les trois compartiments de l'atmosphère avec des concentrations généralement de plus en plus faibles plus le nombre d'atomes de carbone augmente. Il faut aussi noter que les acides dicarboxyliques sont peu volatils avec des pressions de vapeur 100 à 10000 fois inférieures à leurs équivalents monocarboxyliques. De ce fait on les trouve sous forme volatile pour les monocarboxyliques et particulaire pour les dicarboxyliques, les deux formes pouvant se retrouver en phase aqueuse. Enfin, les temps de résidence des acides carboxyliques dans l'atmosphère semblent varier grandement selon les conditions de source et de puit et sont estimés de plusieurs heures à quelques semaines (Chebbi and Carlier, 1996).

- En phase gazeuse : ont été identifiés des acides carboxyliques du C_1 au C_{10} essentiellement monocarboxyliques (formique, acétique, propionique et plus faiblement pyruvique) et quelques dicarboxyliques (oxalique, succinique, malonique, maléique, adipique et phtalique) associés à des particules fines (Souza *et al.*, 1999). Dans la littérature les concentrations gazeuses en acides formique et acétique sont de l'ordre de 0,1 ppbv à 2 ppbv avec des concentrations généralement plus fortes en milieu urbain pouvant aller jusqu'à 20 ppbv (Khwaja, 1995 ; Chebbi and Carlier, 1996 ; Khare *et al.*, 1997 ; Souza *et al.*, 1999 ; Montero *et al.*, 2001). De manière générale la réactivité des acides carboxyliques en phase gazeuse est assez faible et leur puit principal serait en conséquence leur solubilisation dans les hydrométéores (Khwaja, 1995). En effet les constantes de Henry des acides monocarboxylique ne sont pas négligeables (acide formique $K_H = 5,6 \cdot 10^3 \text{ M} \cdot \text{atm}^{-1}$ et acide acétique $K_H = 8,8 \cdot 10^3 \text{ M} \cdot \text{atm}^{-1}$ (Keene and Galloway, 1986)) de plus leur dissociation quasi complète dans les hydrométéores permet de penser que les phénomènes de solubilisation à partir de la phase gazeuse sont très importants (Kawamura *et al.*, 1996) même si il semblerait que la cinétique limitée de ces équilibres ne permettent pas d'atteindre la saturation (Sellegrì *et al.*, 2003(c)). Une études multiphasique menée au sommet du puy de Dôme a montré que si les acides formique et acétique étaient surtout présent dans la phase gazeuse interstitielle, leur présence en phase aqueuse est clairement imputable à une origine quasi exclusivement gazeuse (Sellegrì *et al.*, 2003(c)).

- En phase particulaire : ont surtout été identifiés des acides dicarboxyliques (Oxalique très majoritaire puis succinique, malonique, maléique, adipique et phtalique), la volatilité plus importante des acides monocarboxyliques entraînant des artefacts de prélèvement (Chebbi and Carlier, 1996 ; Kawamura and Kasukabe, 1996 ; Souza *et al.*, 1999 ; Sellegri *et al.*, 2003(a) ; Yao *et al.*, 2003 ; Legrand *et al.*, 2005 ; Yang *et al.*, 2005 ; Ho *et al.*, 2006 ; Legrand *et al.*, 2007). La masse de ces acides carboxyliques va de quelques centaines de ng.m^{-3} en milieu urbain à quelques dizaines de ng.m^{-3} en milieu marin. Il faut noter que la présence de ces acides dicarboxyliques en surface des particules d'aérosols est susceptible de faciliter leur activation en tant que noyau de condensation (CCN^1) (Giebl *et al.*, 2002). Du fait de la faible volatilité des acides dicarboxyliques leur présence dans les hydrométéores peut être associée à des sources particulières (Chebbi and Carlier, 1996).
- En phase aqueuse : ont été identifiés des acides du C_1 au C_{30} , formique et acétique prédominant (Chebbi and Carlier, 1996). On trouve aussi les acides propionique, glycolique, lactique, oxalique, malonique et plus faiblement pyruvique (Khwaja *et al.*, 1995 ; Kawamura *et al.*, 1996 ; Kawamura *et al.*, 2001 ; Marinoni *et al.*, 2004) mais aussi les acides succinique, glyoxylique, glutarique, malique, tartrique et méthane sulfonique (MSA) (Marinoni *et al.*, 2004 et Figure 2-1) ainsi que les acides butyrique, tartronique, maleique et pinique (Van Pinxteren *et al.*, 2005).

Si de très nombreux acides carboxyliques ont été identifiés dans les différents compartiments de l'atmosphère, on remarque toutefois que la plus grande part en concentration concerne ceux allant du C_1 au C_5 .

¹ Cloud Condensation Nuclei

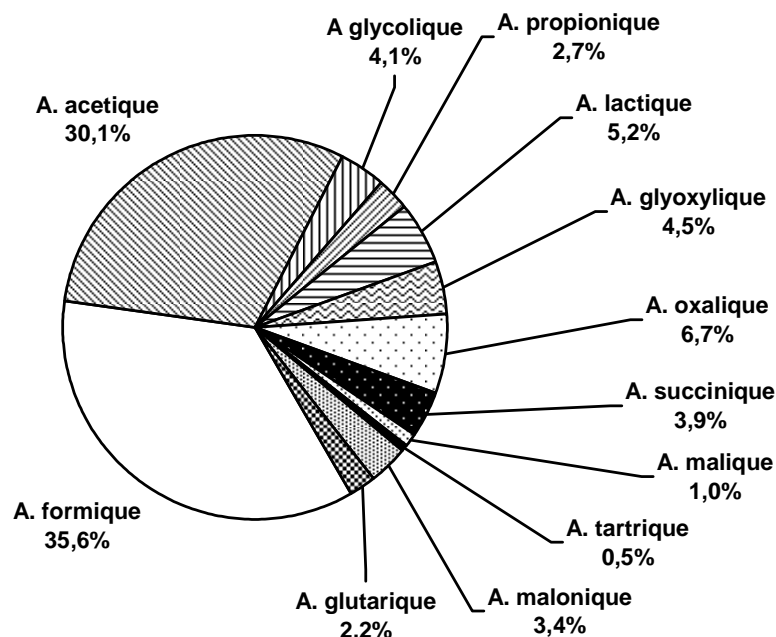


Figure 2-1 : Répartition molaire des différents acides carboxyliques mesurés dans la phase aqueuse des nuages prélevés au puy de Dôme (d'après Marinoni *et al.*, 2004).

2.3.1.2.3 Sources

Une grande part de la problématique des acides carboxyliques dans l'atmosphère concerne la distinction entre leurs sources primaires ou secondaires ainsi que leurs origines biogéniques ou anthropiques. L'évaluation de l'importance des processus de transformation en phase aqueuse conduisant à la formation d'acides carboxylique ou à leur dégradation fait partie intégrante de cette problématique.

Les sources primaires d'acides carboxyliques incluent des sources anthropiques (combustibles fossiles ou non) (Dibb *et al.*, 1996 ; Souza *et al.*, 1999 ; Fornaro and Gutz, 2003), biogéniques (végétation et océan) et naturelles (feux de végétation). Ainsi la combustion de bois provenant d'arbres à feuilles caduques produit majoritairement (56,4% des composés identifiés) des acides carboxyliques à longue chaîne carbonée (C_8 à C_{32}) (Oros and Simoneit, 2001 (b)) alors que la combustion de conifères en produit moins (29%) (C_7 à C_{34}) (Oros and Simoneit, 2001 (a)). Selon les observations dans les pluies de Los Angeles de Kawamura *et al.*, 2001, les sources principales d'acides carboxyliques dans l'atmosphère urbaine seraient de types secondaires très majoritaires par rapport aux émissions directes.

- Monocarboxyliques : Des variations saisonnières dues aux cycles de la végétation ont été mises en évidence ainsi que des augmentations diurnes attestant de fortes productions photochimiques (Khwaja, 1995 ; Khare *et al.*, 1997 ; Montero *et al.*, 2001). Celles-ci se feraient par l'oxydation des isoprènes et des monoterpènes émis par la végétation. L'ozonolyse des α -pinènes, des alcènes et des monoterpènes émis par la végétation semble aussi source d'acides organiques volatils (Neeb *et al.*, 1997 ; Koch *et al.*, 2000 ; Fick *et al.*, 2003). Des mesures dans les carottes de glace prélevées au Col du Dôme (Alpes françaises) ont montré de fortes augmentations des concentrations atmosphériques en acide formique et acide acétique depuis les années 1950 jusqu'aux années 1980 (Legrand *et al.*, 2003). Ces augmentations seraient imputables aux émissions dues à l'utilisation des carburants fossiles dans les véhicules. Elles diminuent depuis les années 1980 jusqu'à retrouver leur niveau de 1950 suite à l'amélioration de la combustion dans les moteurs et au traitement des gaz d'échappement. Quoiqu'il en soit ces émissions anthropiques sont inférieures (sauf quand elles ont atteint leur maximum en 1980) aux émissions naturelles dues à la végétation.
- Dicarboxyliques : Des sources anthropiques directes dues aux échappements des moteurs de véhicules ont été mises en évidence ainsi que des émissions naturelles par les sols. Sur les aérosols urbains de Tokyo, Kawamura and Yasui, 2005 ont observé une augmentation diurne (11h à 14h) des concentrations en acides dicarboxyliques, suivie en fin de journée par une augmentation spécifique de l'acide oxalique. Ils en concluent que la dégradation par photochimie directe et indirecte de la matière organique particulaire ou gazeuse (avec formation d'aérosols secondaires) entraîne la formation de nombreux acides dicarboxyliques qui eux-mêmes vont s'oxyder en acide oxalique. Des phénomènes assez semblables ont été observés en Arctique pendant le passage de l'hiver au printemps polaire (Kawamura *et al.*, 2005). Les réactions entre les acides dicarboxyliques (C_7 à C_{11}) avec les radicaux HO^\bullet ont montré la formation d'acides oxodicarboxyliques (possédant un groupement carbonyle sur un carbone de la chaîne carbonée) dans des aérosols atmosphériques (Römpf *et al.*, 2006).
- Production secondaire en phase aqueuse : Les acides dicarboxyliques mesurés dans les neiges de l'Arctique résulteraient de l'oxydation de composés organiques volatils émis par la végétation au printemps, condensés en aérosols secondaires transportés jusqu'aux hautes latitudes (Narukawa *et al.*, 2002). Ainsi, de fortes corrélations entre les différents

acides dicarboxyliques (C_2 à C_5) semblent plaider en faveur d'une source commune liée à des phénomènes de formation secondaires pouvant se dérouler en phase aqueuse (Legrand *et al.*, 2005). Si de nombreuses réactions d'oxydation suggèrent une importante production secondaire d'acides dicarboxyliques à partir du C_3 conduisant à la formation d'aérosols secondaires, il n'existe en revanche pas à priori de réaction en phase gazeuse susceptible de former de l'acide oxalique. Or ce composé est de loin le plus abondant des acides dicarboxyliques trouvés, ce qui suggère des transformations en phase aqueuse. Ainsi une production d'acide oxalique dans les hydrométéores a été proposée *via* l'oxydation par les radicaux HO^\bullet du glyoxal ($OHCCHO$) gazeux en acide glyoxylique aqueux puis en acide oxalique (Warneck, 2003 ; Crahan *et al.*, 2004). En général, de fortes corrélations entre les concentrations en acide oxalique et en sulfate ont été trouvées ce qui pourrait impliquer des sources communes notamment par les phénomènes d'oxydation du S(IV) en S(VI) qui pourraient être parallèles à ceux de la matière organique dont l'acide oxalique serait le produit (Yu *et al.*, 2005). La photolyse aqueuse de composés tel le biacétyl a aussi été proposée comme source d'acides carboxyliques dans les hydrométéores (Faust *et al.*, 1997). L'oxydation par l'ozone des aérosols constitués de suif produit des polyacides carboxyliques polyaromatiques assimilés aux substances humiques (HULIS¹) (Decesari *et al.*, 2002) qui constitueraient une grande part de la matière organique non identifiée dans les aérosols et les hydrométéores (Krivácsy *et al.*, 2000). Les études les plus poussées regroupent les travaux de Ervens *et al.*, 2003(a) et Ervens *et al.*, 2004(a) sur les voies de dégradation des acides carboxyliques en phase aqueuse atmosphérique à partir de composés présents en phase gazeuse (cf. Figure 2-2). L'importance de cette production secondaire en phase aqueuse sur les aérosols atmosphérique a été évaluée par Legrand *et al.*, 2007 qui quelques soient les sites étudiés ou les saisons montrent le rôle non négligeable de ces productions secondaires. L'impact de ces processus se déroulant dans la phase aqueuse des nuages sur les propriétés microphysiques et optiques des aérosols a été étudié par Ervens *et al.*, 2004(b).

¹ Humic Like Substances

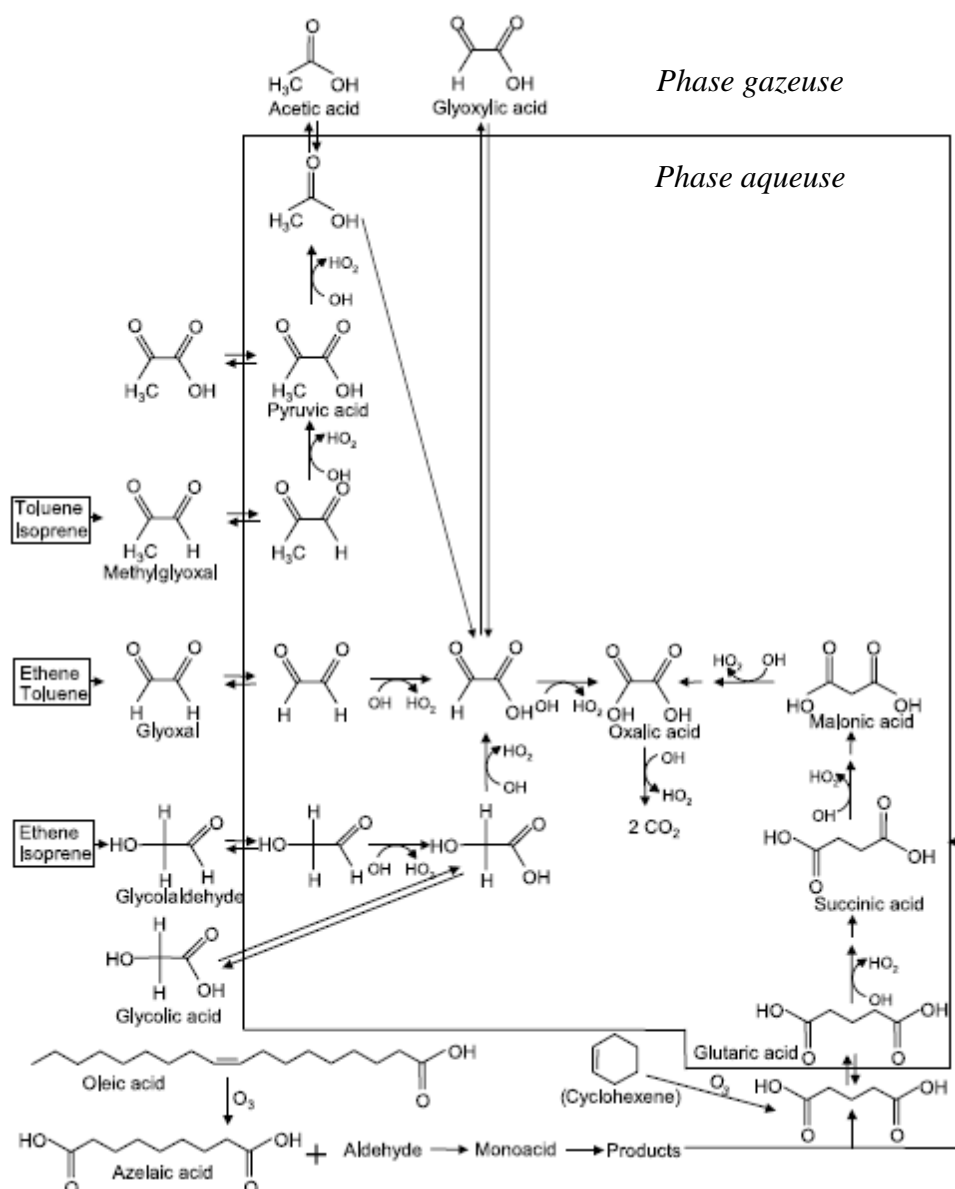
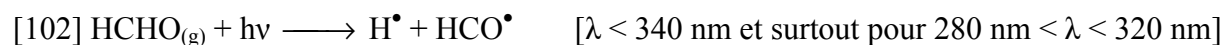


Figure 2-2 : Production d'acides carboxyliques (C₂ à C₅) à partir de composés issus de sources biogéniques et anthropiques d'après Legrand *et al.*, 2007 (adapté de Ervens *et al.*, 2004(a) et de Lim *et al.*, 2005) (avec dans le cadre la chimie en phase aqueuse et en dehors du cadre en phase gazeuse).

2.3.1.3 Les aldéhydes

Les aldéhydes sont présents dans la troposphère en phase gazeuse. Ils semblent être associés aux activités anthropiques (combustions) (Baez *et al.*, 1995 ; Ferrari *et al.*, 1998) et à des sources biogéniques (Fick *et al.*, 2003). En effet ils peuvent résulter de l'oxydation des composés organiques volatils émis par la végétation (isoprènes, terpènes) (Crutzen *et al.*, 2000). On trouve généralement le formaldéhyde (H₂CO) à des concentrations de l'ordre de 0,1 ppbv à 1 ppbv en milieu marin, 0,1 ppbv à 5 ppbv en milieu rural et de 2 à plusieurs

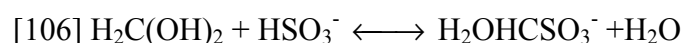
dizaines de ppbv en milieu urbain. Le H_2CO présente généralement des concentrations plus fortes le matin, témoignant d'une production photochimique, puis diminue dans l'après midi (Trapp and De Serves, 1995 ; Sauer *et al.*, 2003 ; Motyka *et al.*, 2006). Leurs puits sont essentiellement la photolyse (plusieurs bandes d'absorption entre 250 nm et 350 nm pour le formaldéhyde et l'acétaldéhyde) (cf. [102] à [105]) ainsi que les réactions avec les radicaux HO^\bullet (Tableau 2-10) et NO_3^\bullet (Atkinson and Arey, 2003).



De plus, les petits aldéhydes sont relativement solubles en phase aqueuse (formaldéhyde $K_{\text{H}} = 3,5 \cdot 10^3 \text{ M} \cdot \text{atm}^{-1}$ et acétaldéhyde $K_{\text{H}} = 11,5 \text{ M} \cdot \text{atm}^{-1}$ (Okita *et al.*, 1983) où ils s'oxydent aisément en acides carboxyliques. Il faut signaler qu'en phase aqueuse les aldéhydes se présentent souvent sous forme hydratée ou gem-diol. Cette forme domine pour le formaldéhyde qui se trouve ainsi rapidement en solution aqueuse non pas en H_2CO mais en méthanediol $\text{H}_2\text{C}(\text{OH})_2$. Pour l'acétaldéhyde les deux formes semblent coexister en concentrations quasiment équivalentes. Il faut noter que ces formes sont globalement moins photoréactives puisqu'elles ne présentent pas d'absorption dans le spectre UV-visible atmosphérique (Xu *et al.*, 1993 ; Sham and Joens, 1995) et qu'elles sont responsables d'un déplacement de l'équilibre de Henry entre les phases gazeuses et aqueuses (Betterton *et al.*, 1988). Par ailleurs il a été rapporté qu'une très faible partie (0,45%) du formaldéhyde gazeux peut se retrouver adsorbée sur des particules sous forme d'hydrates (Odabasi and Seyfioglu, 2005).

Le formaldéhyde est généralement présent dans les hydrométéores avec des concentrations de l'ordre de quelques dizaines de μM , l'acétaldéhyde étant généralement un peu moins concentré (cf. Tableau 2-9). Le formaldéhyde est très réactif vis-à-vis des radicaux HO^\bullet et représenterait un puit important de radicaux HO^\bullet dans les hydrométéores (75% dans les scénarios urbains selon Ervens *et al.*, 2003(b)). Il faut noter que, compte tenu de l'oxydation en phase aqueuse des aldéhydes en acides carboxyliques, il est assez surprenant de trouver de telles concentrations dans les hydrométéores. Ceci témoigne sûrement des transferts depuis la phase gazeuse pour laquelle les nuages sont un puit de formaldéhyde

efficace. Kieber *et al.*, 1999 rapportent que dans les pluies le formaldéhyde représente près de 3% du carbone organique dissout (DOC) et présente des concentrations sensiblement plus fortes en été, ceci pouvant être dû aux émissions directes biogéniques ainsi qu'aux phénomènes photochimiques. Le formaldéhyde (et les autres aldéhydes) aqueux est suspecté de ralentir l'oxydation du S(IV) en S(VI) dans les hydrométéores du fait de sa réaction avec le HSO_3^- pour former de l'acide hydroxyméthanesulfonique (HMSA) (cf. [106]) qui pourrait constituer un important réservoir aqueux de S(IV) (Rao and Collett, 1995 ; Voisin *et al.*, 2000 ; Ervens *et al.*, 2003(c)).



Lieux	Valeurs (μM)	Techniques d'analyse	Références
Los Angeles (USA)	$\text{H}_2\text{C(OH)}_2$: 6 – 73 CH_3CHO : 1 – 55		Richard, 1995
Zürich (Suisse) (brouillard)	$\text{H}_2\text{C(OH)}_2$: 9 – 300	Fluorimétrie	Behra and Sigg, 1990
Wilmington (USA) (pluie)	$\text{H}_2\text{C(OH)}_2$: 1 – 5	2,4-DNPH ¹ + HPLC	Avery <i>et al.</i> , 2001
Los Angeles (USA) (pluie)	$\text{H}_2\text{C(OH)}_2$: 1 – 3 CH_3CHO : 0,2 – 0,5		Kawamura <i>et al.</i> , 1996
Wilmington (USA) (pluie)	$\text{H}_2\text{C(OH)}_2$: 0 – 13	2,4-DNPH + HPLC	Kieber <i>et al.</i> , 1999
Gopalpura (Inde) (pluie)	$\text{H}_2\text{C(OH)}_2$: ~ 5,4	Spectrophotométrie	Khare <i>et al.</i> , 1997
Forêt de Thuringe (Allemagne)	$\text{H}_2\text{C(OH)}_2$: 0,1 – 58,8 CH_3CHO : 0,1 – 10,8	GC	Van Pinxteren <i>et al.</i> , 2005
Henninger (USA)	$\text{H}_2\text{C(OH)}_2$: 3,6 – 48	Spectrophotométrie	Erel <i>et al.</i> , 1993
San Pedro (USA)	$\text{H}_2\text{C(OH)}_2$: 8,6 – 32,1	Spectrophotométrie	Erel <i>et al.</i> , 1993
La Jolla Peak (USA)	$\text{H}_2\text{C(OH)}_2$: 8,6 – 29,9	Fluorimétrie	Rao and Collett, 1995
Angora Peak (USA)	$\text{H}_2\text{C(OH)}_2$: 5,1 – 21,8	Fluorimétrie	Rao and Collett, 1995
Mont Mitchell (USA)	$\text{H}_2\text{C(OH)}_2$: 13,2 – 36,1	Fluorimétrie	Rao and Collett, 1995
Whiteface (USA)	$\text{H}_2\text{C(OH)}_2$: 4,5 – 13,8	Fluorimétrie	Rao and Collett, 1995
Bakersfield (USA)	$\text{H}_2\text{C(OH)}_2$: 82,4 – 183,3	Fluorimétrie	Rao and Collett, 1995

Tableau 2-9 : Concentrations d'aldéhydes dans la phase aqueuse des nuages reportées dans la littérature.

¹ 2,4-dinitrophénylhydrazine

2.3.2 Réactivité des espèces organiques en solution aqueuse

La réactivité des espèces organiques en phase aqueuse est essentiellement due à la réaction avec le radical hydroxyle (HO^\bullet). De ce fait de nombreuses constantes de réactivité des HO^\bullet sur les composés organiques ont été évaluées expérimentalement et sont reportées dans la littérature. Les voies de dégradation de ces acides carboxyliques sont pourtant peu documentées au-delà du C_2 (Karpel Vel Leitner and Doré, 1996 ; Karpel Vel Leitner and Doré, 1997 ; Monod *et al.*, 2000 ; Warneck, 2003). La réactivité des acides carboxyliques avec les radicaux libres en phase aqueuse est connue (surtout avec les radicaux HO^\bullet) mais leurs voies de dégradation sont assez peu documentées (Franch *et al.*, 2004). On suppose que leur oxydation photochimique se traduit par une diminution progressive de la chaîne carbonée telle qu'observée par Kawamura and Kasukabe, 1996 pour les acides dicarboxyliques en phase particulaire (A. succinique \longrightarrow A. malonique \longrightarrow A. oxalique). Les travaux les plus poussés dans ce domaine sont ceux de Ervens *et al.*, 2004(a) qui ont modélisé les dégradations des acides carboxyliques dans la phase aqueuse des nuages jusqu'au C_5 (cf. Figure 2-2 par Legrand *et al.*, 2007). Les puits et transformations dans les hydrométéores restent donc encore assez mal caractérisés puisqu'ils dépendent, pour les petits acides monocarboxyliques, d'équilibres de solubilité avec la phase gazeuse interstitielle (Sorooshian *et al.*, 2006), en fonction principalement du pH, de la température et du contenu en eau des nuages (Khan *et al.*, 1995).

Composés	Réactions	pH	k (M ⁻¹ .s ⁻¹)
A. acétique pKa = 4,75	$\text{HO}^\bullet + \text{CH}_3\text{COOH} \rightarrow \bullet\text{CH}_2\text{COOH}$	1	(¹) $1,6.10^7$
	$\text{HO}^\bullet + \text{CH}_3\text{COO}^- \rightarrow \bullet\text{CH}_2\text{COO}^-$	10	(²) $1,7.10^7$ (¹) $8,5.10^7$ (²) $7,0.10^7$
A. adipique pKa ₁ = 4,41 pKa ₂ = 5,41	$\text{HO}^\bullet + \text{HOOC}(\text{CH}_2)_4\text{COOH} \rightarrow ?$	2	(¹) $2,0.10^9$
A. citrique pKa ₁ = 3,16 pKa ₂ = 4,78 pKa ₃ = 6,38	$\text{HO}^\bullet + (\text{HOOCCH}_2)_2\text{COH}(\text{COOH}) \rightarrow ?$	1	(¹) $5,0.10^7$
A. formique pKa = 3,76	$\text{HO}^\bullet + \text{HCOO}^- \rightarrow \bullet\text{CO}_2^- + \text{H}_2\text{O}$	> 6	(¹) $3,2.10^9$ (²) $2,4.10^9$
	$\text{HO}^\bullet + \text{HCOOH} \rightarrow \bullet\text{COOH} + \text{H}_2\text{O}$	1	(¹) $1,3.10^8$ (²) $1,0.10^8$
A. glutarique pKa ₁ = 4,32 pKa ₂ = 5,42	$\text{HO}^\bullet + \text{HOOC}(\text{CH}_2)_3\text{COOH} \rightarrow ?$	2	(¹) $8,3.10^8$
	$\text{HO}^\bullet + \text{OOC}(\text{CH}_2)_3\text{COO}^- \rightarrow ?$	6	(³) $1,0.10^9$
A. glycolique pKa = 3,84	$\text{HO}^\bullet + \text{HOCH}_2\text{COO}^- \rightarrow \bullet\text{CHOHCOO}^- + \text{H}_2\text{O}$	5,5	(¹) $8,6.10^8$
	$\text{HO}^\bullet + \text{HOCH}_2\text{COOH} \rightarrow \bullet\text{CHOHCOOH} + \text{H}_2\text{O}$	2	(¹) $6,0.10^8$
A. glyoxylique pKa ≈ 2,3	$\text{HO}^\bullet + \text{OCHCOOH} \rightarrow$	1	(²) $3,6.10^8$
	$\text{HO}^\bullet + \text{OCHCOO}^- \rightarrow$	8	(²) $2,6.10^9$
A. lactique pKa = 3,86	$\text{HO}^\bullet + \text{CH}_3\text{CHOHCOO}^- \rightarrow \text{CH}_3\text{C}^\bullet(\text{O}^-)\text{COO}^- + \text{H}_2\text{O}$	11	(¹) $3,0.10^8$
	$\text{HO}^\bullet + \text{CH}_3\text{CHOHCOOH} \rightarrow ?$	1	(¹) $4,3.10^8$
A. malique pKa ₁ = 3,46 pKa ₂ = 5,14	$\text{HO}^\bullet + \text{OOCCH}_2\text{CHOHCOO}^- \rightarrow ?$?	(¹) $8,6.10^8$
	$\text{HO}^\bullet + \text{HOOCCH}_2\text{CHOHCOOH} \rightarrow$	2	(¹) $7,5.10^8$
	$\text{HOOCCH}_2\text{C}^\bullet\text{OHCOOH} + \text{H}_2\text{O}$		
A. malonique pKa ₁ = 2,80 pKa ₂ = 5,67	$\text{HO}^\bullet + \text{CH}_2(\text{COO}^-)_2 \rightarrow ?$	6-7	(¹) $3,0.10^8$
	$\text{HO}^\bullet + \text{HOOCCH}_2\text{COO}^- \rightarrow ?$	9	(²) $6,0.10^7$
	$\text{HO}^\bullet + \text{CH}_2(\text{COOH})_2 \rightarrow ?$	< 2	(¹) $2,0.10^7$
A. oxalique pKa ₁ = 1,25 pKa ₂ = 4,23	$\text{HO}^\bullet + (\text{COO}^-)_2 \rightarrow ?$	6	(¹) $7,7.10^6$ (²) $1,6.10^8$
	$\text{HO}^\bullet + \text{HOOC}\text{COO}^- \rightarrow ?$	3	(¹) $4,7.10^7$ (²) $1,9.10^8$
	$\text{HO}^\bullet + (\text{COOH})_2 \rightarrow ?$	0,5	(¹) $1,4.10^6$
A. propionique pKa = 4,87	$\text{HO}^\bullet + \text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^- \rightarrow ?$	9	(¹) $8,2.10^8$ (²) $7,2.10^8$
	$\text{HO}^\bullet + \text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH} \rightarrow ?$	2	(¹) $6,2.10^8$ (²) $3,2.10^8$
A. pyruvique pKa = 2,75	$\text{HO}^\bullet + \text{CH}_3\text{COCOO}^- \rightarrow ?$	9	(¹) $3,1.10^7$ (²) $7,0.10^8$
	$\text{HO}^\bullet + \text{CH}_3\text{COCOOH} \rightarrow ?$	0	(²) $1,2.10^8$

Composés	Réactions	pH	k (M ⁻¹ .s ⁻¹)
A. succinique pKa ₁ = 4,23 pKa ₂ = 5,64	HO• + (CH ₂ COOH) ₂ → HOCC•HCH ₂ COOH + H ₂ O HO• + (CH ₂ COO ⁻) ₂ → ?	1-10	(¹) 3,1.10 ⁸ (²) 1,1.10 ⁸ (³) 1,2.10 ⁸ (²) 5,0.10 ⁸ (³) 7,0.10 ⁸
A. tartrique (d/m) pKa ₁ = 3,06 / 3,11 pKa ₂ = 4,38 / 4,80	HO• + (CHOHCOOH) ₂ → ? HO• + (CHOHCOO ⁻) ₂ → ?	2-9	(¹) 7,0.10 ⁸ (¹) 6,8.10 ⁸
MSA pKa = ?	HO• + CH ₃ SO ₃ ⁻ → ?	?	(¹) 1,0.10 ⁹
Acétaldéhyde	HO• + CH ₃ CHO + ½(O ₂) → CO ₂ + O ₂ + CH ₃ •	1	(⁴) 3,6.10 ⁹
Acétaldéhyde hydraté	HO• + CH ₃ C(OH) ₂ + ½(O ₂) → CH ₃ COOH + O ₂ + HO•	1	(⁴) 1,2.10 ⁹
Formaldéhyde ?	HO• + H ₂ CO + ½(O ₂) → CO ₂ + O ₂ + H•	1	(¹) 1,0.10 ⁹
Méthanediol	HO• + H ₂ C(OH) ₂ + ½(O ₂) → HCOOH + O ₂ + HO•	1	(¹) 1,0.10 ⁹ (²) 7,8.10 ⁸
Glyoxal	HO• + OHCCHO → H ₂ O + O•CCHO	1,3	(¹) 6,6.10 ⁷ (²) 1,1.10 ⁹
Ethanol	HO• + CH ₃ CH ₂ OH → H ₂ O + CH ₃ C•HOH (85%) H ₂ O + CH ₃ CH ₂ O• (2%) H ₂ O + •CH ₂ CH ₂ OH (13%)	3-11-5	(¹) 1,9.10 ⁹ (²) 2,1.10 ⁹ (³) 2,1.10 ⁹
Méthanol	HO• + CH ₃ OH → H ₂ O + •CH ₂ OH (93%) H ₂ O + CH ₃ O• (7%)	6-7	(¹) 9,7.10 ⁸ (²) 1,0.10 ⁹ (³) 1,3.10 ⁹
Méthane	HO• + CH ₄ → •CH ₃ + H ₂ O	5,5	(¹) 1,2.10 ⁸

Tableau 2-10 : Constantes de réactivité des radicaux HO• sur des composés organiques (298 K) d'après Buxton *et al.*, 1988 (¹), Ervens *et al.*, 2003(a) (²), Herrmann, 2003 (³), Schuchmann and Von Sonntag, 1988 (⁴)

A travers ces valeurs (cf. Tableau 2-10), on peut constater que le radical HO• est très fortement réactif avec les composés organiques majeurs présents dans la phase aqueuse atmosphérique, les constantes de réactivité (en M⁻¹.s⁻¹) étant comprises entre 8.10⁶ et 3.10⁹. Ces valeurs sont donc, pour certains composés très réactifs, proches de la limite de diffusion en phase aqueuse (1.10¹⁰ M⁻¹.s⁻¹). On peut observer que certaines valeurs varient énormément selon la source avec des incertitudes pour chaque constante (non représentées dans ce tableau) qui approchent 33% de la valeur.

2.4 Les microorganismes dans les nuages

2.4.1 Généralités sur les microorganismes

Le terme microorganismes regroupe de façon assez impropre une grande diversité d'être vivants généralement unicellulaires. On distingue les procaryotes (Bactéries et Archaea) dont les cellules ne possèdent pas de noyau et les eucaryotes (Champignons, Levures et Protozoaires) qui possèdent un noyau. Les virus sont généralement considérés comme faisant partie des microorganismes mais leur incapacité à se reproduire en l'absence de cellules hôtes les range à part dans la taxonomie du vivant. Dans la suite de cette étude nous n'inclurons dans les microorganismes que les Bactéries, Archaea, Levures et Champignons.

Les microorganismes sont présents dans toutes les niches écologiques, y compris dans les milieux extrêmes, en apparence impropres au développement de la vie (que ce soit en terme de température, pH, hygrométrie, pression osmotique, toxicité et rayonnement). En effet, leur capacité d'adaptation (provenant de la variabilité de leur matériel génétique ainsi que de leurs temps de génération très brefs) ainsi que leur capacité à développer des formes de résistance (sporulation, déshydratation) et à rentrer en latence leur permet d'assurer leur survie et leur développement dans presque tous les milieux.

Leur capacité à transformer des molécules et à transférer de l'énergie (métabolisme) à l'intérieur aussi bien qu'à l'extérieur de leurs cellules en fait des éléments clef des cycles biogéochimiques tels ceux du carbone, du soufre ou celui de l'azote. Il faut noter que cette capacité à transformer les molécules s'effectue *via* l'action de protéines qui transportent ces substrats à l'intérieur de la cellule (transporteurs membranaires) et d'autres qui catalysent des réactions le plus souvent dans le milieu intracellulaire (enzymes). Ces transformations peuvent se dérouler même lorsque les cellules sont en état de repos métabolique, c'est à dire en absence de croissance, auquel cas les microorganismes sont alors de simples biocatalyseurs.

2.4.2 Des microorganismes dans les nuages

La présence de microorganismes dans l'atmosphère est connue puisqu'il s'agit d'un des modes de dissémination d'organismes pathogènes (pour les animaux ou pour les végétaux). La bioaérosolisation peut se produire depuis bien des milieux (sols, surface des plantes, surface des océans) et les microorganismes sont susceptibles de représenter selon les milieux une part non négligeable des aérosols de taille allant de 0,1 μm à 10 μm .

Cependant l'eau des gouttelettes de nuages constitue un milieu relativement agressif pour les microorganismes. Les pH sont parfois assez faibles, la pression osmotique peu importante, le rayonnement UV conséquent, les températures assez variables et surtout c'est un milieu très instable puisque les gouttelettes ont des temps de vie très faibles (de l'ordre d'une vingtaine de minutes) avec de nombreux cycles d'évaporation et de condensation. Malgré cela, la présence de microorganismes dans l'eau des nuages est attestée par des études démontrant que ce milieu est susceptible d'accueillir des microorganismes vivants même de façon transitoire (Fuzzi *et al.*, 1997 ; Amato *et al.*, 2005 ; Amato *et al.*, 2007(a) ; Hill *et al.*, 2007).

La capacité à se développer à des températures assez faibles des souches isolées de la phase aqueuse des nuages prélevée au sommet du puy de Dôme a été mise en évidence avec pour certaines souches des caractéristiques psychrophiles¹ (Amato *et al.*, 2007(a)). De plus les concentrations en ATP² trouvées dans l'eau des nuages prélevée au puy de Dôme montrent qu'une grande partie des organismes échantillonnés sont vivants. Ceci suggère qu'au moins une partie des microorganismes présents dans la phase aqueuse des nuages a le potentiel de conserver une activité métabolique et d'induire des transformations biochimiques.

L'influence anthropique subie par certaines masses d'air, notamment la diminution du pH et la présence de métaux lourds, est susceptible d'affecter les microorganismes (Fuzzi *et al.*, 1997 ; Amato *et al.*, 2005). Au puy de Dôme les concentrations en bactéries sont corrélées à la quantité de Na⁺ (Amato *et al.*, 2007(b)) présent en phase aqueuse ce qui suggère des sources océaniques communes ou un stress plus faible induit par les milieux sous influence océanique notamment par le pH, ou encore l'hygroscopie plus importante des aérosols marins minimisant le stress hydrique durant le transport des particules jusqu'à la formation du nuage. Cet aspect sera développé plus en détail dans la partie résultat (cf. 4.2.6).

¹ Capacité à se développer dans des environnements froids du fait d'adaptations physiologiques.

² Adénosine Tri Phosphate : molécule servant de carburant aux cellules de tous les organismes vivants.

2.4.3 Capacité de biodégradation de ces microorganismes

Si les microorganismes sont présents dans les milieux aqueux atmosphériques se pose la question de leur impact sur la composition chimique de ces milieux. Les études portant sur l'évaluation du rôle des microorganismes sur la chimie des nuages sont peu nombreuses (Herlihy *et al.*, 1987 ; Ariya *et al.*, 2002 ; Ariya and Amyot, 2004 ; Amato *et al.*, 2005 ; Amato *et al.*, 2007(c)) car le manque de données dans ce domaine est encore trop important. Les travaux de Amato *et al.*, 2007(c) ont permis de montrer que les microorganismes possédaient la capacité à se développer dans la phase aqueuse des nuages. En effet, un échantillon d'eau nuageuse mis à incuber tel quel (17°C sous agitation) a montré une augmentation du nombre de microorganismes et de l'ATP (cf. Figure 2-3). Ceci montre bien que la phase aqueuse du nuage possède potentiellement les éléments permettant le développement et la croissance des microorganismes aussi bien en terme de substrat organique (C, O et H) que inorganique (N et P nécessaire entre autre à la constitution de l'ADN).

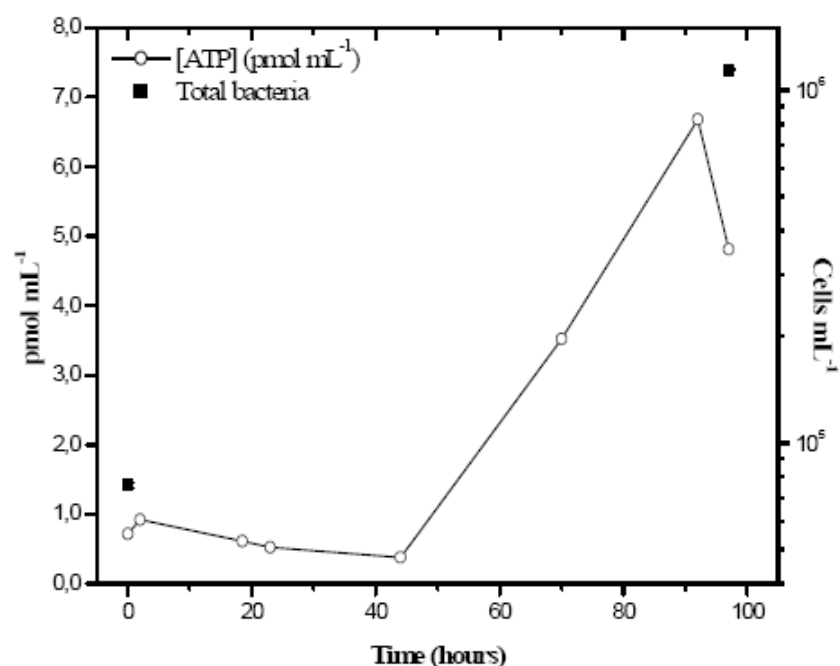


Figure 2-3 : Evolution de la concentration en ATP et en bactéries (comptées par épifluorescence) dans un échantillon d'eau nuageuse conservé à 17°C et sous agitation (200 rpm) (d'après Amato *et al.*, 2007(c)).

L'étude du métabolisme des microorganismes (et plus généralement des êtres vivants) montre l'implication d'un grand nombre de composés présent dans la phase aqueuse du

nuage. De manière générale la plupart des acides carboxyliques retrouvés en fortes concentrations dans l'eau des nuages sont potentiellement utilisables pour l'activité des microorganismes. A titre d'exemple la Figure 2-4 montre les divers chemins métaboliques permettant la biotransformation de l'acide glyoxylique et d'autres acides dicarboxyliques.

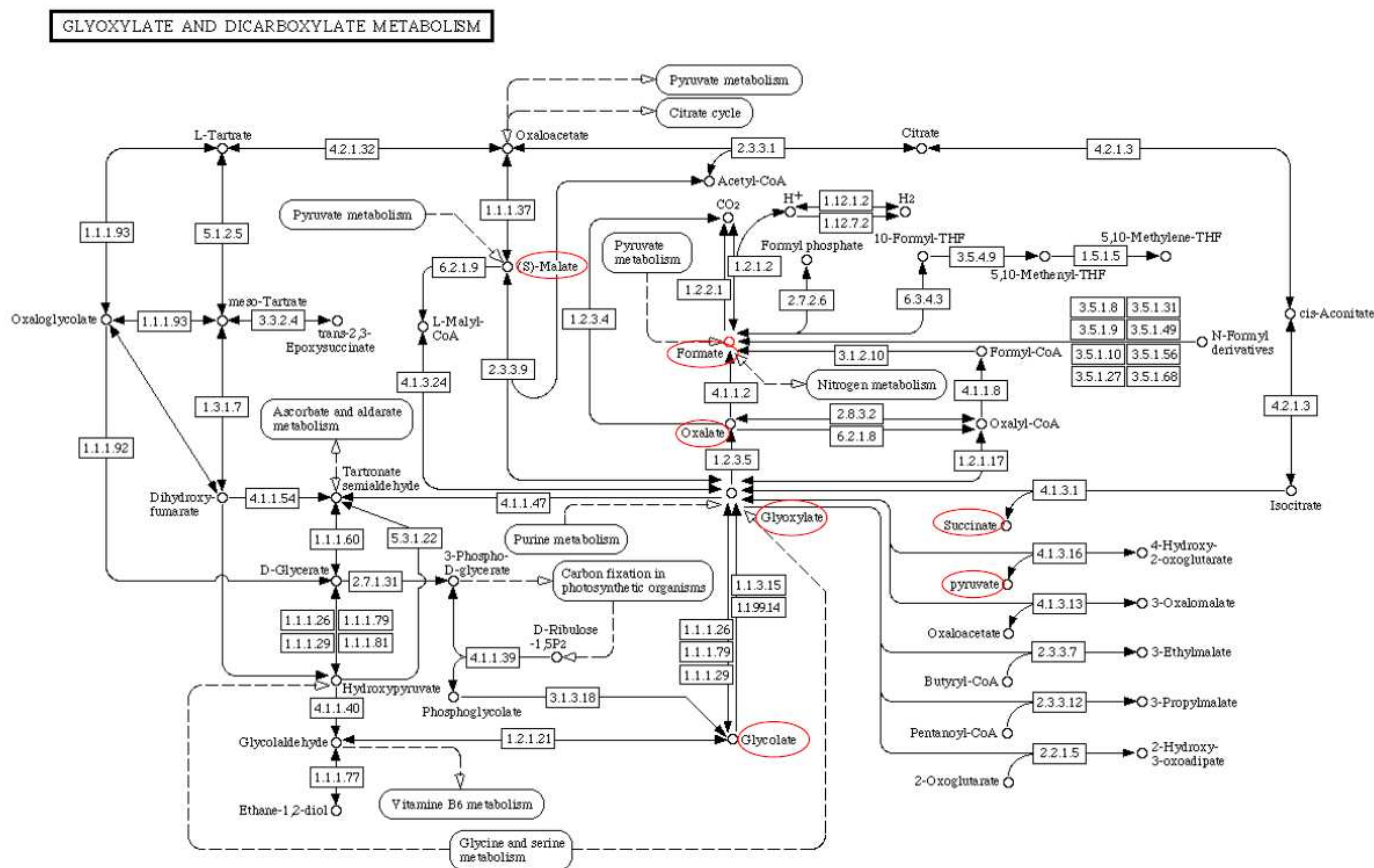


Figure 2-4 : Métabolisme du glyoxylate et des acides dicarboxyliques (les acides carboxyliques classiques de la phase aqueuse des nuages sont entourés, les numéros représentent des enzymes impliquées dans les différentes voies de transformation métaboliques) (source KEGG : <http://www.genome.jp/kegg/pathway.html#metabolism>).

Les études de biodégradation conduites sur les souches isolées de la phase aqueuse des nuages au puy de Dôme montrent que les microorganismes des nuages ont le potentiel pour dégrader les acides carboxyliques (formique, acétique, lactique, succinique) ainsi que le formaldéhyde et le méthanol par diverses voies de bioconversion (Amato *et al.*, 2005 ; Amato *et al.*, 2007(c)). La comparaison de ces voies métaboliques avec les voies de dégradation de la chimie radicalaire montre de manière schématique des similitudes notamment au niveau des intermédiaires de réaction. La Figure 2-5 montre l'exemple de la dégradation de composés en C₁ schématisée d'après les travaux de Monod *et al.*, 2000 et Delort, 2006.

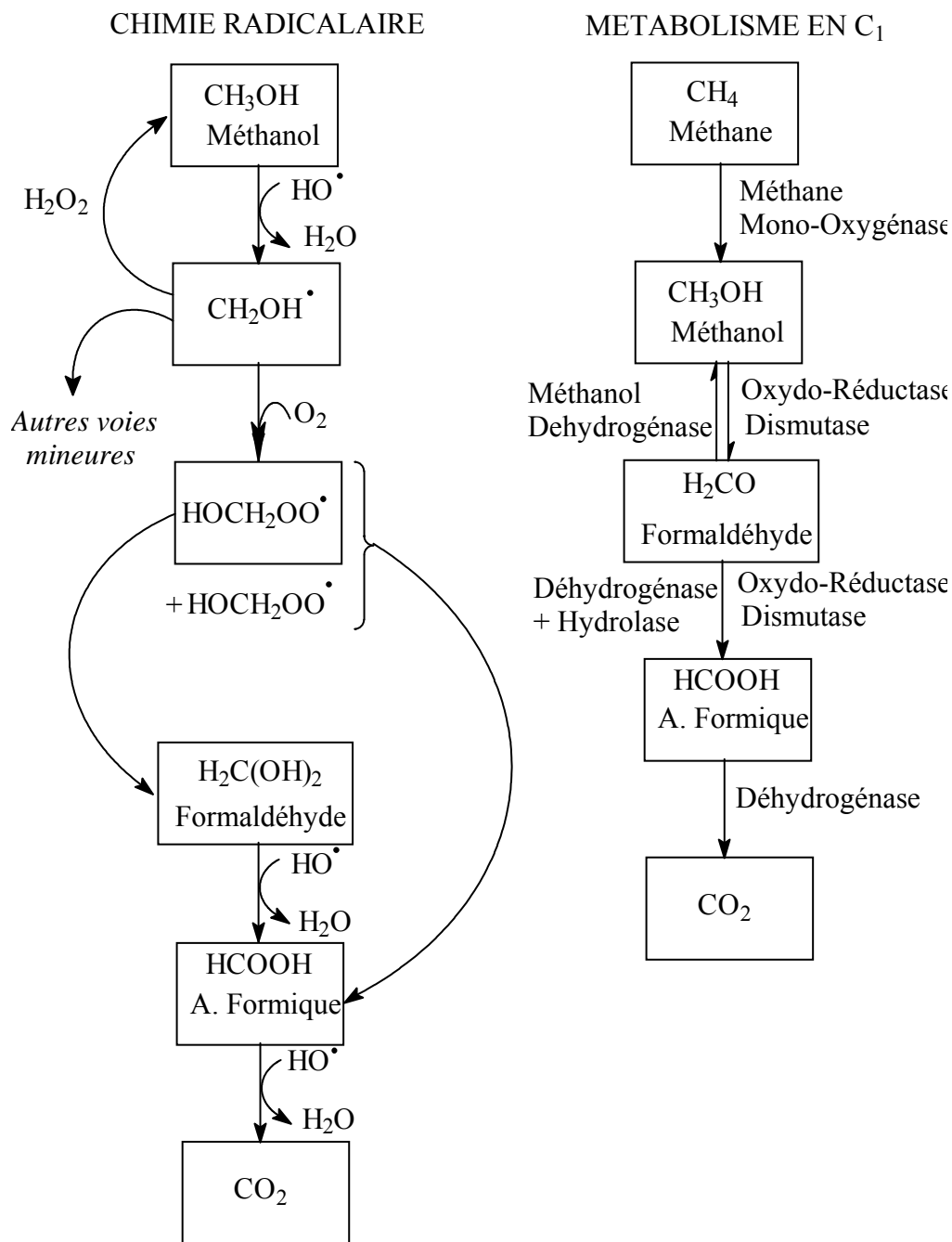


Figure 2-5 : Comparaison des schémas de dégradation d'un composé en C₁ par la chimie radicalaire et par dégradation biotique (d'après Monod *et al.*, 2000. et Delort, 2006)

Ces résultats de biodégradations ne sont que des indices de l'activité bactérienne dans l'eau des nuages. En effet, il y a une grande différence entre la dégradation d'un substrat unique par une souche seule et un milieu complexe en terme de substrat, de compétition entre plusieurs organismes et aux conditions contraignantes comme c'est le cas dans la phase aqueuse des nuages. Ariya *et al.*, 2002 et Amato *et al.*, 2007(d) ont tenté de comparer la réactivité des espèces radicalaires vis-à-vis de la matière organique avec des biodégradations

obtenues avec des souches isolées de la phase aqueuse des nuages. Cette comparaison est effectuée par un calcul des temps de vie de différents composés de la phase aqueuse des nuages grâce aux constantes de la littérature pour les espèces radicalaires (HO^\bullet , HO_2^\bullet , NO_3^\bullet) ainsi que par des données expérimentales de biodégradations en ce qui concerne l'aspect microorganismes. Les résultats, malgré des différences entre les deux publications au niveau de la chimie radicalaire, semblent indiquer dans les deux cas des temps de vie assez semblables entre les différents processus. Ceci semblerait indiquer que le rôle des microorganismes dans la chimie de la phase aqueuse des nuages peut être significatif. Cette approche est certes contestable car elle est très réductrice aussi bien en terme de chimie radicalaire que de microbiologie. Cependant, elle montre bien la nécessité d'élaborer un cadre expérimental commun aux expériences de photochimie et de microbiologie, afin de pouvoir disposer de réels éléments de comparaison. Cette approche doit se faire progressivement par des expériences combinant en laboratoire les dégradations photochimiques et microbiologiques sur des substrats simples (ce que nous avons réalisé au cours de ce travail de thèse). A terme il est envisageable de travailler sur des substrats complexes comme des échantillons de nuage préalablement stérilisés.

2.5 Recherche au sommet du puy de Dôme

Comme il a été indiqué précédemment cette étude s'inscrit dans la continuité des nombreux travaux réalisés sur les différentes phases atmosphériques au sommet du puy de Dôme.

Ainsi, Voisin *et al.*, 2000 ont étudié les phénomènes de transfert de masse dues à l'interaction entre les gaz acides de la phase gazeuse interstitielle (HCOOH , CH_3COOH , HNO_3 , HCl et SO_2) et les hydrométéores des nuages mixtes (glace et liquide). Ils ont trouvé une déviation importante, dépendante du pH, des équilibres de Henry pour l'ensemble de ces gaz acides. Alors que les acides forts sont en sous saturation dans l'eau en surfusion, une importante sursaturation du S(IV) est observée. Celle-ci peut s'expliquer par la présence de HMSA qui est un réservoir de S(IV) limitant son oxydation en S(VI). Il semblerait que les phénomènes de désorption de HCl , HNO_3 et NH_3 de la phase aqueuse à la phase gazeuse pendant le gel due à l'impact d'une gouttelette liquide sur un cristal de glace soient très limités. Au contraire le SO_2 montre un dégazage conséquent. Par contre, du fait de concentrations gazeuses assez faibles HCl , HNO_3 et NH_3 ont montré une incorporation limitée par diffusion dans les cristaux de glace au cours de leur croissance, avec cependant des concentrations supérieures à l'équilibre pour le HNO_3 . Ces espèces gazeuses sont donc plutôt incorporées dans les cristaux de glace par la capture des gouttelettes liquide que par diffusion directe de la phase gazeuse dans le cristal de glace. Les acides carboxyliques qui présentent des concentrations plus importantes en phase gazeuses et une solubilité plus limitée en phase aqueuse, sont par contre majoritairement incorporés aux cristaux de glace par diffusion.

Sellegrì *et al.*, 2003(c) ont montré que l'interaction entre la phase gazeuse interstitielle et la phase aqueuse du nuage était très importante. Ainsi les apports en HNO_3 et HCl depuis la phase gazeuse sont proches des équilibres prédits par la loi de Henry. De plus le HCl montre une évaporation très efficace au cours des cycles d'évaporation des gouttelettes de nuages. D'un autre côté le NH_3 et les acides carboxyliques montrent une sous saturation en phase aqueuse, l'équilibre de Henry étant limité par la cinétique du transfert depuis la phase gazeuse. Le S(IV) présente une sursaturation en phase aqueuse. L'acide formique et l'acide acétique présents dans l'eau du nuage proviennent surtout de la phase gazeuse interstitielle. De manière plus surprenante l'acide oxalique semble lui aussi provenir majoritairement de la

phase gazeuse interstitielle. En ce qui concerne le NO_3^- et le NH_4^+ trouvés en phase aqueuse, leur origine serait pour moitié particulaire et pour moitié gazeuse.

Sellegrì *et al.*, 2003(a) ont montré que les aérosols inorganiques interstitiels étaient plus aisément captés par les gouttelettes nuageuses que ceux organiques. Ceci témoigne d'un mélange externe entre ces deux types d'aérosols. De même le carbone élémentaire montre une solubilité plus grande que le carbone organique. Cependant le transfert dans la phase aqueuse du nuage de cette matière organique hydrophobe peut être favorisé par de fortes concentrations en HNO_3 .

Sellegrì *et al.*, 2003(b) ont montré que l'anthropisation croissante d'une masse d'air sur le site du puy de Dôme s'accompagnait d'un accroissement de la masse en aérosols. Dans ce cas les SO_4^{2-} , NO_3^- et NH_4^+ dominent parmi les espèces ioniques solubles. De manière générale les SO_4^{2-} d'origine non marine (nss SO_4^{2-}) représentent plus de 90% des SO_4^{2-} totaux dans le cas des événements sous influence anthropique et dans les autres cas de 20% à 40%. Le dégazage du HCl semble plus efficace pour les particules les plus fines, probablement du fait d'une surface efficace plus importante. Des sources anthropiques conséquentes de K^+ ont aussi été mises en évidence, imputables aux combustions de biomasse ou de carburant fossiles. L'acide oxalique est de manière assez classique le plus abondant des acides dicarboxyliques analysés. Différents types de masse d'air ont pu être mis en évidence avec un bruit de fond troposphérique présentant une large part de Na^+ et peu de SO_4^{2-} et de NO_3^- . L'influence anthropique est marquée par un accroissement des SO_4^{2-} , NO_3^- et NH_4^+ mais parmi ces trois composés c'est surtout l'influence des NO_3^- qui semble être la signature la plus nette pour l'influence anthropique. Les masses d'air sahariennes montrent de fortes concentrations en Ca^{2+} et K^+ d'origine non marine et sont de plus marquées par de fortes concentrations en NO_3^- montrant que les particules d'origine saharienne constituent des surfaces favorisant la condensation des HNO_3 de la phase gazeuse.

Marinoni *et al.*, 2004 ont montré la grande variabilité de composition de la phase aqueuse des nuages d'un événement nuageux à l'autre. L'influence anthropique se traduit par des concentrations plus fortes en NH_4^+ , NO_3^- et SO_4^{2-} avec une diminution du carbone organique dissous. Du fait de l'importance des apports en provenance de la phase gazeuse la corrélation entre contenu total en ions et le contenu en eau liquide est limitée. Les aérosols à forte composante organique présentent une plus faible capacité à devenir des noyaux de condensation. Les masses d'air correspondant au bruit de fond troposphérique montrent des

concentrations plus faibles en NO_3^- et SO_4^{2-} avec des pH plus proches de la neutralité alors que les masses d'air sous forte influence anthropique présentent des pH plus faibles avec des concentrations plus importantes en NO_3^- .

Afin d'aider à l'interprétation des mesures de terrain ainsi qu'à la compréhension des interactions complexes entre processus chimiques et microphysiques au sein des nuages, le modèle de chimie multiphase M2C2 (Model of Multiphase Cloud Chemistry), couplé à un modèle de microphysique, a été mis en place et validé au cours de ces 6 dernières années au LaMP. Il s'agit d'un modèle numérique de type parcelle d'air permettant de simuler finement les processus physico-chimiques au sein des nuages. Ce modèle inclut des mécanismes chimiques détaillés pour la phase gazeuse, la phase aqueuse et les échanges entre l'air interstitiel et les gouttes de nuage ou de pluie (Leriche *et al.*, 2000). Le schéma de microphysique inclut dans le modèle est un schéma à deux moments qui inclut les processus de nucléation des gouttelettes, de condensation/évaporation, de collision/coalescence et de sédimentation. Le couplage entre les processus microphysiques et chimiques permet de considérer la redistribution des espèces chimiques par les processus de collision/coalescence entre l'air, l'eau nuageuse et l'eau de pluie, ainsi que le puits net que constitue la sédimentation pour les espèces chimiques (Leriche *et al.*, 2001). Le module décrivant l'évolution des particules a également été couplé avec le module de chimie multiphase en incorporant dans les gouttelettes nuageuses nouvellement formées les espèces chimiques solubles présentes dans les particules d'aérosols activés qui pourront participer par la suite à la réactivité chimique (Leriche *et al.*, 2007). Actuellement le module de microphysique de M2C2 est en cours de développement au LaMP afin d'inclure la microphysique glacée. Ceci permettra de simuler des nuages mixtes ou glacés qui sont fréquents en hiver au sommet du puy de Dôme.

Le modèle a notamment été appliqué à un événement nuageux au sommet du Puy de Dôme échantillonné durant la campagne européenne CIME (Cloud Ice Mountain Experiment) d'abord avec le modèle sans microphysique (Leriche *et al.*, 2000) puis avec le modèle couplé (Leriche *et al.*, 2001). La comparaison entre les résultats issus du modèle et les mesures ont montré une bonne capacité du modèle à simuler la chimie du nuage. La prise en compte des processus microphysiques permet de simuler correctement l'évolution du pH à la fois dans l'eau nuageuse et dans la pluie. Ce travail a permis de mettre en évidence l'émergence d'une nouvelle voie réactionnelle en phase aqueuse qui produit à la fois du sulfate et du nitrate et influence la concentration des NO_x de façon différente suivant que les processus

microphysique sont considérés ou non. Des tests de sensibilité ont permis par la suite de montrer que cette voie réactionnelle pouvait aussi être importante dans d'autres conditions environnementales que celle de l'événement nuageux du puy de Dôme (Leriche *et al.*, 2003). La comparaison entre la répartition simulée et mesurée des espèces réactives entre les phases gazeuse et aqueuse (nuage et pluie) montre un bon accord quand les processus de collision/coalescence sont considérés, soulignant leur rôle dans la redistribution des espèces chimiques (Leriche *et al.*, 2003).

Suite à la prise en compte de la formation du nuage et de l'évolution du spectre des aérosols, une étude a été effectuée sur l'impact de la nucléation des gouttelettes nuageuses sur la composition chimique des nuages (Leriche *et al.*, 2007). Pour cela, le modèle a été appliqué au cas d'un événement nuageux en présence de la masse d'air polluée au puy de Dôme étudié précédemment, les données utilisées pour initialiser le modèle ayant été complétées avec des données physico-chimiques sur les aérosols sur la base du travail de Sellegri *et al.*, 2003(b). La simulation effectuée dans ce cadre est représentative d'un événement nuageux au sommet du puy de Dôme en présence d'une masse d'air hivernale polluée. Les concentrations simulées dans le nuage sont comparées aux mesures de Marinoni *et al.*, 2004. Finalement, les contributions relatives du lessivage par nucléation des particules d'aérosols, du lessivage des gaz et de la réactivité chimique sont évaluées pour leur importance dans la composition chimique des gouttes.

Ce travail de thèse s'inscrit dans la continuité des analyses de terrain effectuées au sommet du puy de Dôme sur la phase aqueuse des nuages en complétant la base de données présentée par Marinoni *et al.*, 2004. De plus, il s'effectue en parallèle des travaux portant sur la microbiologie des gouttelettes d'eau nuageuse (Amato *et al.*, 2005 ; Amato, 2006 ; Amato *et al.*, 2007(a) ; Amato *et al.*, 2007(b) ; Amato *et al.*, 2007(c) ; Amato *et al.*, 2007(d)). Enfin, il vise à apporter des informations pertinentes pour les travaux de modélisation, notamment sur les sources de radicaux HO• dans la phase aqueuse du nuage (photochimie du fer et du H₂O₂), ainsi que sur la réactivité et le devenir des acides carboxyliques dans ce même milieu.

3 Matériel et méthode

*« Le nuage dit à l'indien : Tire sur moi tes flèches
je ne sentirai rien ».*

*« C'est vrai, rien ne t'ébrèche, répond le sauvage,
Mais vois mes tatouages ! Rien de pareil sur les nuages. »*

Le nuage, destinée arbitraire – Robert Desnos

*« J'aime les nuages ... les nuages qui passent
là-bas ... là-bas ... les merveilleux nuages. »*

Le spleen de Paris – Charles Baudelaire

*« On ne peut comprendre un processus en l'interrompant.
La compréhension doit rejoindre le cheminement du processus et cheminer avec lui. »*
Première Loi du Mentat

Dune – Franck Herbert

3.1 Prélèvements

3.1.1 Site de prélèvement

3.1.1.1 Situation

Le puy de Dôme culmine à 1465 m dans la chaîne des puys du Massif Central. Cette chaîne orientée nord-sud représente le premier massif montagneux rencontré par les masses d'air en provenance de l'océan Atlantique qui se trouve à une distance de 400 Km environ. Le puy de Dôme domine largement le relief qui l'entoure, constituant donc un site privilégié pour la formation de nuages orographiques.

La présence de grandes agglomérations comme Bordeaux ou Nantes à l'ouest du puy de Dôme est susceptible d'influencer les prélèvements opérés sur le site. Cependant d'après les études précédentes cela ne semble pas affecter la composante océanique des masses d'air en provenance de l'ouest.

L'agglomération de Clermont-Ferrand (près de 290 000 habitants) se situe à 20 Km à l'est du site et n'influence que très rarement les mesures effectuées puisque d'une part les vents d'est sont assez rares, et d'autre part ils ne contiennent généralement pas assez d'humidité pour pouvoir former un nuage.

Le site du puy de Dôme est donc relativement exempt de sources de pollution locales et constitue un site privilégié pour l'étude des nuages de part sa topographie, ainsi que pour l'observation des masses d'air océaniques de l'ouest et des masses d'air sous influence anthropique en provenance des zones industrialisées du nord de l'Europe (région parisienne, bassin de la Ruhr).

Ce site présente aussi l'avantage d'être accessible par une route dont le trafic est contrôlé permettant d'éviter une trop forte influence en période d'affluence touristique (essentiellement les mois de juillet et d'août durant lesquels les nuages sont rares et l'activité de prélèvement très réduite). De plus le sommet est historiquement équipé pour l'observation de l'atmosphère avec son observatoire de pointe, labellisé par l'institut national des sciences de l'univers (INSU) en 2002, comptant parmi les mieux instrumentés d'Europe.

3.1.1.2 Instrumentation

Le chalet de l'Observatoire installé au sommet du puy de Dôme depuis 1876 est aujourd'hui instrumenté pour l'observation de nombreux paramètres atmosphériques.

- Paramètres physiques et météorologiques : Rayonnement (UV, visible, diffus), JNO₂, vent (vitesse et direction), température, pression et humidité.
- Paramètre gazeux : NO_x, NO_y, O₃, CO, CO₂, SO₂.
- Paramètres particuliers: Nombre de particules, spectre dimensionnel, Carbone suie (BC), Radon, Contenu en eau liquide (LWC) et rayon effectif des gouttelettes.

Pour une description plus complète du site de mesure et de l'instrumentation qui est mise en œuvre on pourra consulter le site de l'Observatoire : <http://www.obs.univ-bpclermont.fr/atmos/pdd/visitepuydedome/acceuil.html>.

3.1.2 Impacteurs à nuage

En plus de l'instrumentation existant trois impacteurs à nuage ont été mis en place pour l'étude de la phase aqueuse des nuages. Ces appareils ont été construits selon une technique mise au point à Sonnblick (Autriche) par Kruisz *et al.*, 1993 (cf. Figure 3-1). Le système d'impaction se compose d'un impacteur à étage unique additionné d'un écran de protection contre le vent permettant son fonctionnement à des vitesses de vent très élevées. Le flux d'air est aspiré par une pompe dans une fente située dans la partie supérieure de l'enceinte cylindrique en aluminium. Les gouttelettes de nuage aspirées viennent s'impacter sur une plaque de collecte et sont ensuite récupérées dans un vase de collecte.

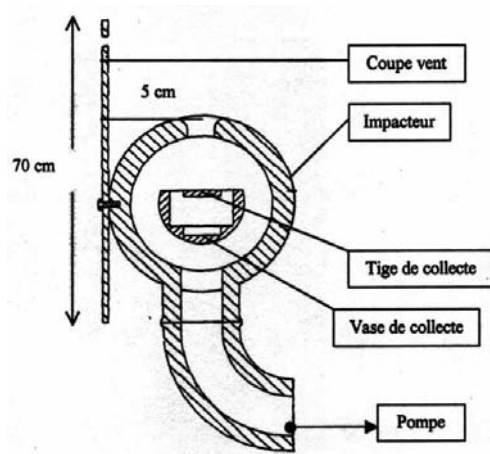


Figure 3-1 : Schéma en coupe de l'impacteur à gouttelettes d'après Kruisz *et al.*, 1993.

Pour un débit de pompage de $86 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$, la limite inférieure du diamètre aérodynamique est d'environ $7 \mu\text{m}$ (Kasper-Giebel *et al.*, 2000). Cette limite correspond à la plus grande part des gouttelettes de nuage (diamètre $> 3 \mu\text{m}$) même si une partie des

gouttelettes les plus fines (diamètre $< 10 \mu\text{m}$) ne sont pas échantillonnées (Collett *et al.*, 1995). Ce dispositif permet donc de prélever la phase condensée et non pas l'aérosol interstitiel. Enfin l'échantillonnage n'est conduit que sur des nuages non précipitants afin d'éviter la contamination par des hydrométéores qui ne seraient pas en suspension. Il faut noter que si la température est inférieure à environ -1°C les gouttelettes congèlent à l'impaction et l'échantillon est alors prélevé sous forme de glace.

Pour cette étude nous disposions donc de trois impacteurs adaptés aux différents paramètres que nous analysons dans nos événements nuageux.

- Le premier collecteur utilisé a été construit par le Laboratoire de Glaciologie et de Géophysique de l'Environnement (LGGE) de Grenoble dans un matériau inerte vis-à-vis des substances organiques et inorganiques (acier inoxydable et aluminium). Il est relié à un double système d'aspiration qui lui permet tout en conservant les mêmes caractéristiques dynamiques d'échantillonner des volumes d'air plus conséquents. Cet impacteur sera utilisé pour les analyses de la matière organique en priorité ainsi que pour les paramètres physico-chimiques (pH, conductivité et potentiel rédox) et pour les irradiations du fait des volumes d'eau nuageuse plus importants qu'il peut prélever (en moyenne environ 60 mL par heure).
- Le deuxième impacteur a été construit en Teflon par les services techniques de l'Observatoire de Physique du Globe de Clermont-Ferrand (OPGC) et possède les mêmes caractéristiques dynamiques que le premier impacteur. Du fait de sa composition en Teflon cet impacteur est utilisé pour les analyses de métaux et de chromatographie ionique en priorité. Cet impacteur permet de prélever environ 30 mL par heure.
- Le troisième est réservé aux prélèvements pour la microbiologie effectués en même temps. Il est identique à celui en Teflon mais est en acier inoxydable et subit un traitement différent de décontamination entre chaque campagne d'échantillonnage au puy de Dôme.

Avant chaque campagne d'échantillonnage au puy de Dôme la partie amovible des impacteurs est soigneusement lavée à l'eau ultra pure et isolée de toute contamination par une gaine plastique jusqu'au moment du prélèvement. L'impacteur dédié à la microbiologie subit pour sa part un autoclavage (traitement haute pression et haute température) pour éviter toute contamination bactérienne.

3.2 Analyses chimiques

3.2.1 Rétrotrajectoires

Les origines des masses d'air échantillonnées ont été déterminées grâce au modèle de transport et dispersion HYSPLIT (HYbrid Single-Particle Lagrangian Integrated Trajectory) (Draxler and Rolph, 2003) (disponible sur le site web <http://www.arl.noaa.gov/ready.html>) mis en libre accès par le NOAA Air Resources Laboratory (ARL).

3.2.2 Paramètres physico-chimiques

Le pH a été mesuré avec un Consort P400, la conductivité et le potentiel rédox avec un Consort multiparamètre C830. Le potentiel rédox est mesuré par une électrode au Calomel possédant un potentiel différent de celui de l'électrode à hydrogène de référence. Ainsi il faut ajouter 0,24 V aux potentiels mesurés pour pouvoir les comparer au potentiel standard.

3.2.3 Chromatographie ionique

Deux installations de chromatographie ionique différentes ont été utilisées pour nos échantillons.

- Une première correspond aux analyses effectuées par Marinoni *et al.*, 2004 et concerne les événements nuageux #1 à #17 (cf. Tableau 4-1). Il s'agit d'un dispositif DIONEX 500 doté d'une colonne AS11 pour les anions et d'un dispositif DIONEX 100 doté d'une colonne CS12 pour les cations basés au LGGE de Grenoble. La méthode d'analyse (développée pour les anions par Jaffrezo *et al.*, 1998) permet une bonne séparation des acides carboxyliques et l'analyse de nombreux composés anioniques.
- La deuxième installation concerne les événements #31 à #43 (cf. Tableau 4-1). Il s'agit d'un dispositif DIONEX 320 doté d'une colonne AS11 pour les anions et d'un dispositif DIONEX 1500 doté d'une colonne CS16 pour les cations basés au LaMP de Clermont-Ferrand. La méthode d'analyse utilisée est assez semblable à celle utilisée par Jaffrezo *et al.*, 1998 et Ricard *et al.*, 2002 (mais sans ajout de méthanol) et est basée sur un gradient d'éluant permettant une bonne séparation des composés caractéristiques de la phase aqueuse des nuages. Cependant notre système, du fait de l'absence de méthanol dans son éluant, ne permet pas une séparation correcte de l'acide acétique et de l'acide glycolique d'une part et de l'acide formique et de l'acide glyoxylique d'autre part. Ceci ajoute un

peu d'incertitude sur les mesures d'acide acétique et d'acide formique effectuées même si les concentrations en milieux naturels sont très en faveur de ces deux composés (acides formique et acétique) par rapport aux deux acides pouvant éventuellement interférer. L'utilisation de boucle d'injection de 750 μL nous permet d'atteindre des limites de détection de quelques nM pour les anions inorganiques, de quelques dizaines de nM pour les acides carboxyliques et de quelques dixièmes de μM pour les cations. L'incertitude est généralement inférieure à 5%. Des étalonnages croisés entre des étalons certifiés et des étalons fabriqués par nos soins ont montré d'excellents recoupements. De plus, des étalonnages fréquents ont montré la fiabilité temporelle du matériel dont les droites d'étalonnage ne sont pas modifiées en cas de changement de colonne par exemple. Les échantillons sont toujours préparés sous haute à flux laminaire et la verrerie ainsi que les consommables d'injection sont rincés systématiquement à l'eau ultra pure.

3.2.4 Peroxyde d'hydrogène

Les concentrations en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) sont déterminées par une méthode de spectrophotométrie dans laquelle la N,N-diéthyl-p-phénylènediamine (DPD) est utilisée dans une réaction catalysée par une peroxydase (POD) (cf. Figure 3-2) (Bader *et al.*, 1988). En présence de cette dernière, une molécule de H_2O_2 oxyde deux molécules de DPD en radicaux cationiques $\text{DPD}^{\bullet+}$. Ces derniers sont stables par résonance (Michaelis and Hill, 1933) et ont une structure présentant un spectre d'absorption possédant deux maximum à des longueurs d'onde de 510 nm et 551 nm avec des coefficients d'absorption molaire respectifs de $\varepsilon = 19930 \text{ M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ et de $\varepsilon = 21000 \text{ M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$. La technique est facile à mettre en œuvre sur le terrain mais n'est malheureusement pas sélective puisqu'elle inclut dans la mesure les divers peroxydes organiques. Nos temps d'échantillonnage (1 à 2 heures), les concentrations de ces peroxydes organiques par rapport à celles de H_2O_2 ainsi que leurs temps de vie laisse à penser que cette incertitude sur la mesure de H_2O_2 est minime.

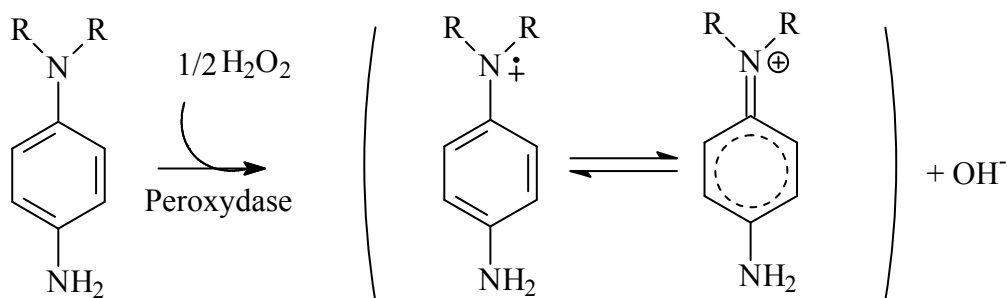


Figure 3-2 : Réaction du DPD avec H_2O_2 en présence de peroxydase.

Le dosage s'effectue dans une cellule de 10 cm de trajet optique (type 14.002B-QS, trajet optique 100 mm, Hellma) avec l'ajout des composés suivants dans l'ordre et aux volumes indiqués (leur mélange s'effectue directement dans la cuve par agitation avec une tige en Teflon). La densité optique (DO) est alors mesurée à la longueur d'onde de 551 nm.

- 4 mL d'échantillon
- 0,5 mL de solution tampon (hydrogéo- et dihydrogénophosphate de sodium) (pH = 7,2)
- 10 μ L de DPD
- 10 μ L de POD

La concentration en H_2O_2 en μM est alors calculée avec l'équation suivante :

$$[\text{H}_2\text{O}_2] = ((\text{DO}_{\text{mesurée}} - \text{DO}_{\text{blanc}}) \times 4,52) / (21000 \times 10 \times 4)$$

La limite de détection de cette technique analytique est de l'ordre de 0,1 μM avec une incertitude de l'ordre de 10%.

3.2.5 Fer

3.2.5.1 Fe(II)

Ce dosage s'effectue aussi par spectrophotométrie grâce à un puissant agent complexant du fer ferreux, la ferrocine (cf. Figure 3-3). Celle-ci permet de doser le fer dans les eaux naturelles en formant instantanément (la constante de réaction entre le Fe(II) et la ferrocine est très élevée : $k = 3.10^{11} \text{ M}^{-1}.\text{s}^{-1}$ (Thompson and Mottola, 1984)) un complexe stable de couleur magenta très soluble dans l'eau de stoechiométrie deux molécules de ferrocines pour une de Fe(II). Ce dosage ne peut toutefois s'appliquer que pour des pH compris entre 4 et 8 auxquels le complexe est stable (Stookey, 1970 et Kundra *et al.*, 1974). Le spectre d'absorption du complexe de fer ferreux avec la ferrocine présente un maximum caractéristique à une longueur d'onde de 562 nm avec un coefficient d'absorption molaire égal à $\epsilon = 26500 \text{ M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ (Stookey, 1970).

Le dosage du Fe(II) s'effectue dans une cellule de 10 cm de trajet optique avec les composés suivants dans l'ordre et aux volumes indiqués. Leur mélange s'effectue dans un bécher en plastique par agitation avec une tige en Teflon. La densité optique est mesurée à la longueur d'onde de 562 nm.

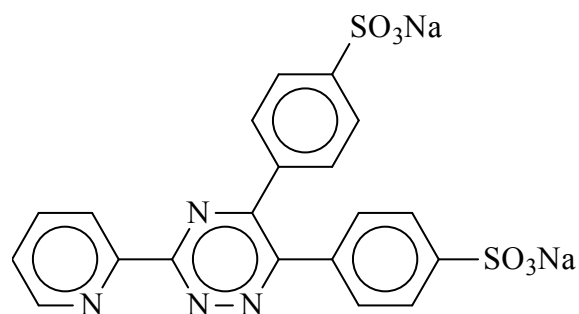


Figure 3-3 : Structure de la ferrocine

- 0,3 mL de H₂SO₄ à 3,6 mol.L⁻¹
- 3 mL d'échantillon
- 0,3 mL de ferrocine
- 0,3 mL de solution tampon d'acétate d'ammonium (pH = 7)

La concentration en Fe(II) en μM est alors calculée avec l'équation suivante :

$$[\text{Fe(II)}] = ((\text{DO}_{\text{mesurée}} - \text{DO}_{\text{blanc}}) \times 3,9) / (26500 \times 10 \times 3)$$

La limite de détection de cette technique analytique est de l'ordre de 0,1 μM avec une incertitude de l'ordre de 10%.

3.2.5.2 Fe(total)

Le dosage du Fe(total) est identique à celui du Fe(II), mis à part que l'on remplace les 0,3 mL de la solution de H₂SO₄ par le même volume de la solution de chlorhydrate d'hydroxylamine qui est un puissant réducteur du Fe(III) en Fe(II). Il faut tout de même laisser une vingtaine de minutes de contact entre l'échantillon et la solution de chlorhydrate d'hydroxylamine avant de rajouter les autres réactifs afin de s'assurer que tout le Fe(III) est bien réduit en Fe(II).

3.2.6 Métaux de transition

Ces analyses s'effectuent grâce à un détecteur de métaux DIONEX AD25 et une colonne CS5A. Cet appareil fonctionne en parallèle de la chromatographie ionique basée au LaMP de Clermont-Ferrand précédemment décrite (cf. 3.2.3). L'analyse est basée sur un éluant spécifique contenant le 4-(2-(pyridylazo)résorcinol (PAR, cf. Figure 3-4) et un complexant des métaux de transition injecté après la séparation dans la colonne, l'acide pyridine-2,6-dicarboxylique (PDCA, cf. Figure 3-5) dont les complexes sont détectés ensuite à 520 nm.

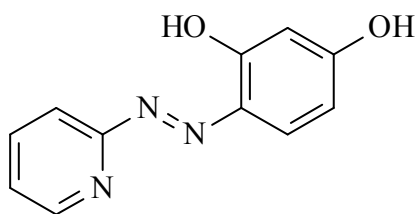


Figure 3-4 : Eluant PAR

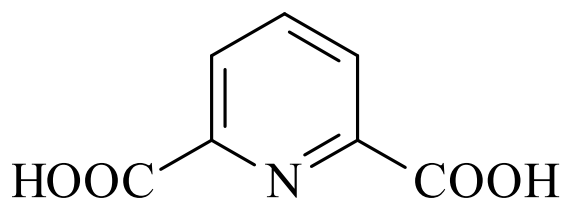


Figure 3-5 : Complexant PDCA

Cette technique d'analyse permet de mesurer les concentrations en Fe^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} et Mn^{2+} avec des limites de détections de l'ordre 20 nM excepté pour le Ni^{2+} et le Zn^{2+} pour lesquels elles sont de l'ordre de 0,1 μM . Les incertitudes sont de l'ordre de 10% et l'intercomparaison entre cette technique analytique et le dosage par spectrophotométrie du Fe^{2+} et du Fe^{3+} a montré des résultats très similaires que ce soit dans le cas d'une solution simple ou complexe (cf. Tableau 3-1).

Fer	Dosage spectrophotométrie	Dosage analyseur métaux
Fe^{2+} ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	129	134
Fe^{3+} ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	390	366
$\text{Fe}(\text{total})$ ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	519	500

Tableau 3-1 : Intercomparaison entre les méthodes de dosage du fer par spectrophotométrie et par analyseur à métaux pour une solution étalon certifiée de Fe^{2+} de 500 $\mu\text{g.L}^{-1}$ s'étant partiellement oxydée en Fe^{3+} .

3.2.7 Carbone organique total (TOC)

L'analyse et la spéciation du carbone (organique et inorganique) en phase aqueuse s'effectuent grâce à l'analyseur TOC 5050A (Total Organic Carbon Analyser) produit par Shimadzu. Il permet une mesure du carbone total (TC) par détection et quantification du CO_2 émis après une combustion de l'échantillon dans un four à 680°C. Le carbone inorganique (IC) (carbonates et hydrogénocarbonates) est mesuré par le CO_2 émis après acidification de l'échantillon par une solution d'acide orthophosphorique (H_3PO_4) à 25%. L'analyseur soustrait alors la concentration de carbones inorganiques à la concentration en carbones totaux pour obtenir celle des carbones organiques.

La précision de l'appareil est de l'ordre du mg.L^{-1} avec une limite de détection de l'ordre de 1 mg.L^{-1} . Les mesures de TOC tiennent en effet compte des erreurs commises sur la mesure du TC et de l'IC.

3.2.8 Formaldéhyde

Le dosage du H_2CO s'effectue grâce à l'analyseur formaldéhyde AL4021 produit par Aerolaser. La détection du H_2CO est basée sur la réaction en phase liquide du H_2CO avec l'acétylacétone et une amine (NH_3) (réaction de Hantzsch cf. Figure 3-6). Le produit de cette réaction (l' α - α' -diméthyl- β - β' -diacétyl-pyridine) est tout d'abord excité à 400 nm par une lampe à vapeur de mercure, puis l'émission de fluorescence du composé est détectée à

510 nm. Cette fluorescence est transformée en un signal proportionnel à la concentration présente en phase aqueuse.

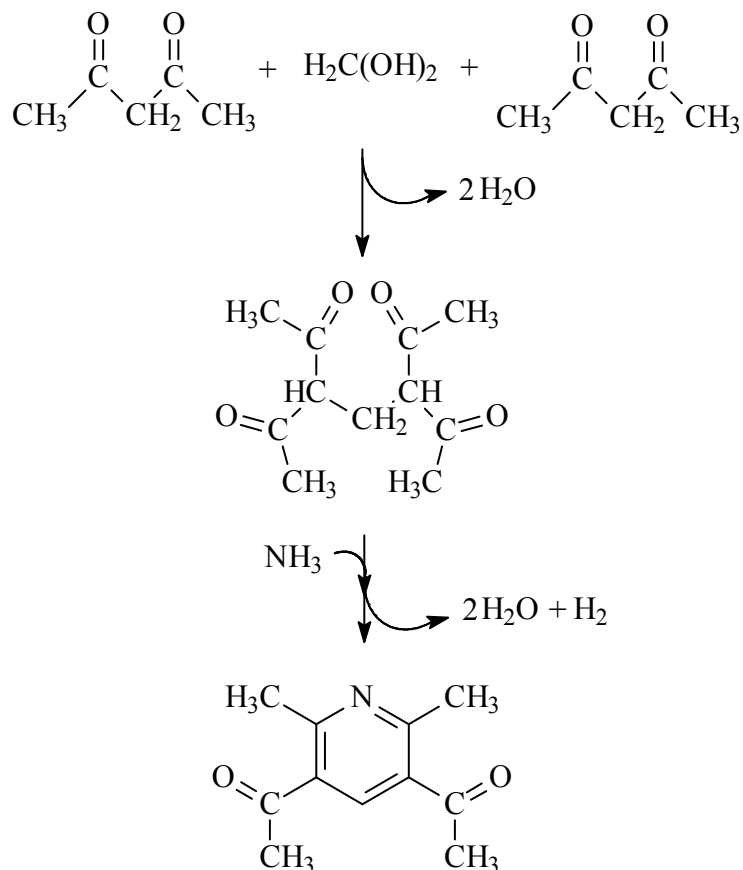


Figure 3-6 : Réaction de Hantzsch.

Cet appareil permet de réaliser des mesures continues du H_2CO en phases aqueuse et gazeuse, mesures stockées avec une acquisition informatique. La gamme de concentration mesurable par l'analyseur va de $300 \mu\text{g.L}^{-1}$ à une limite de détection théorique de $0,1 \mu\text{g.L}^{-1}$. Dans les faits, l'incertitude calculée, avec une confiance de 95%, sur la mesure est de l'ordre de $2 \mu\text{g.L}^{-1}$ et dépend de la gamme d'étalonnage choisie mais ne permet pas des mesures précises pour des concentrations inférieures à $5 \mu\text{g.L}^{-1}$.

3.3 Analyses microbiologiques

3.3.1 Dénombrement

Le dénombrement des microorganismes dans les échantillons d'eau des nuages s'effectue par microscopie à épifluorescence.

- Les échantillons sont fixés au sommet du puy de Dôme directement après prélèvement par ajout d'un volume équivalent de formaldéhyde à 4-5% (généralement trois répliquas de 15 mL d'échantillon aqueux auxquels on ajoute 15 mL de formaldéhyde). Le formaldéhyde est préparé à l'avance à partir d'une solution de formaldéhyde à 37% (stabilisé avec 8% de méthanol, Sigma). Après leur fixation les échantillons peuvent être conservés à 4°C jusqu'à leur analyse au laboratoire.
- Les échantillons sont ensuite homogénéisés par agitation et incubés 20 minutes au noir en présence de 2,5 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de 4'-6-diamino-2-phénylindole (DAPI) qui est un fluorochrome intercalant de l'ADN. On ajoute donc 300 μL d'une solution de DAPI à 250 $\mu\text{g.L}^{-1}$ dans le cas d'un échantillon constitué de 15 mL de phase aqueuse de nuage et de 15 mL de formaldéhyde.
- Les échantillons sont ensuite filtrés (Millipore, GTB 0,2 μM), rincés de leur excès de DAPI à l'eau distillée stérile et ils sont enfin déposés sur une lame d'observation microscopique.
- Le dénombrement s'effectue alors par microscopie à épifluorescence (microscope Olympus BH-2 équipé d'une grille de comptage) à une longueur d'onde d'excitation de 365 nm. Le fluorochrome émet alors une lumière bleue ($\lambda = 420 \text{ nm}$) qui permet l'observation des cellules. Les champignons sont comptés au grossissement $\times 40$ pour lequel les bactéries ne sont pas ou peu visibles. Les bactéries sont comptées au grossissement $\times 100$.

$$\text{Les concentrations en cellules dans l'échantillon (cellules.mL}^{-1}\text{)} = \frac{S_f}{S_g} \times \frac{N_{\text{cellules}}}{N_{\text{champs}} \times F_d \times V}$$

Avec S_f qui est la surface de filtration, S_g la surface de la grille de comptage (dépendant de l'objectif), N_{cellules} le nombre total de cellules dénombrées, N_{champs} le nombre de

champs comptés, F_d le facteur de dilution de l'échantillon (0,5 du fait de l'ajout du formaldéhyde pour la fixation) et V le volume d'échantillon fixé (en mL).

3.3.2 Culture et isolement

La mise en culture des échantillons de nuage vise à permettre aux différentes bactéries de se multiplier de manière à obtenir des colonies¹ de souches pures pouvant ainsi être différenciées, isolées et cultivées séparément.

- Cette mise en culture s'effectue en conditions stériles au sommet du puy de Dôme directement après prélèvement. On effectue un étalement de 0,1 mL d'échantillon sur des milieux gélosés (solides) Trypcase-soja Agar (Bio Mérieux) (milieu généraliste), R2A (Difco) (milieu oligotrophe) et Sabouraud (Difco) (milieu pour champignons). Chaque étalement est effectué en trois répliquas pour une incubation à 15°C et 27°C, soit 18 boîtes de Pétri. Le stockage avant mise en incubation au laboratoire s'effectue à 4°C.
- Les microorganismes sont ensuite dénombrés (chaque microorganisme dans l'échantillon ayant l'aptitude de se développer sur un milieu donné va engendrer une colonie) au bout de 4 à 5 jours d'incubation pour obtenir le nombre d'organismes cultivables.
- Les différentes colonies sont ensuite prélevées et incubées isolément dans des milieux identiques à celui de leur développement initial. Une observation des caractéristiques morphologiques des organismes de chaque colonie est relevée, puis un numéro de souche lui est attribué.
- Les souches isolées sont enfin conservées par congélation et/ou lyophilisation. Dans le cas de la congélation les souches sont tout d'abord incubées pendant 15 min avec 15% de glycérol puis congelées à -80°C. Dans le cas de la lyophilisation une suspension des cellules est effectuée dans du lait écrémé puis lyophilisé avec un lyophilisateur RP2V.

3.3.3 Identification des souches isolées

L'identification des souches s'effectue par analyse de l'ARNr 16S dont la séquence d'acides nucléiques peut ensuite être comparée à des banques de données.

¹ Agrégat de cellules issues d'un individu unique.

3.3.4 Dosage de l'ATP¹

Ce dosage vise à la mesure de la quantité d'ATP présente dans la phase aqueuse des nuages. Celle-ci est révélatrice de la vitalité des organismes que l'on y trouve et permet de connaître la quantité d'organismes vivant du fait de l'existence d'un ratio moyen entre microorganismes vivants et concentration en ATP dans un milieu donné.

- Ce dosage s'effectue grâce à un kit (ATP Biomass Kit HS de chez Biothema). Il s'agit d'un dosage enzymatique basé sur les propriétés bioluminescentes de la luciférine. Une émission de photons est provoquée par l'oxydation de cette molécule par la luciférase avec consommation d'une molécule d'ATP par photon émis. Cette émission est mesurée avec un luminomètre LUMAC Biocounter M2500.

3.3.5 Biodégradations

Ces expériences visent à tester la capacité d'une souche unique à dégrader un substrat donné. Ce dernier peut être un milieu simple ne contenant qu'un seul composé (par exemple un acide carboxylique) ou un milieu complexe (contenant par exemple plusieurs acides carboxyliques et des ions inorganiques). Ces milieux sont des solutions aqueuses dans lesquelles on introduit une quantité déterminée de microorganismes et dont les variations de composition chimique vont être suivies au cours du temps.

3.3.5.1 Etalonnage

Pour connaître précisément le nombre de cellules inoculées dans le milieu on effectue une suspension de bactérie et un dénombrement qui va ensuite être corrélé à une densité optique (DO). Cette méthode n'est utilisable que pour des milieux relativement concentrés en microorganismes afin d'obtenir une DO significative.

- Pour le comptage des cellules d'un milieu donné on effectue plusieurs dilutions décimales successives qui sont ensuite étalées sur des milieux gélosés (solide). Après incubation (24 à 72 heures) de ces milieux on peut dénombrer les colonies correspondant à des individus uniques dans le milieu initial. Ces dénombrements sont considérés comme significatifs si l'on obtient entre 30 et 300 colonies.

¹ Adénosine Tri Phosphate : molécule servant de carburant aux cellules de tous les organismes vivants.

- Pour chacune des dilutions effectuées on mesure la densité optique (DO) à 575 nm. On observe une bonne corrélation entre la DO et nombre de bactéries dénombrées permettant l'établissement d'une courbe de calibration propre à chaque souche.

3.3.5.2 Incubation

Les milieux à incuber sont conservés à 5°C, répartis par volume de 100 mL dans des erlenmeyers stériles de 250 mL. Ils sont ensuite placés dans des incubateurs (appareils permettant de maintenir une température thermostatée et une agitation des milieux d'incubation) 1 heure avant ensemencement.

- On détermine la concentration en cellules du milieu contenant la souche à ensemer.
- On prélève le volume nécessaire à l'ensemencement (+10%). Ce volume de milieu de culture contenant les microorganismes va être centrifugé (15 min à 4000g et à 5°C), puis le culot va être mis en suspension dans le même volume de milieu à ensemer. Cette opération va être répétée une fois.
- On enseme le milieu à biodégrader qui va être placé en incubation aux conditions de température de l'expérience (généralement 5°C, 12°C ou 17°C).
- Chaque prélèvement est centrifugé (4 min à 13000g et à 2°C) puis le surnageant est récupéré et congelé à -45°C jusqu'à analyse.

3.4 Irradiations

3.4.1 Enceintes et lampes

3.4.1.1 Modèle elliptique à 3 néons

Ce premier modèle est une enceinte réfléchissante à base elliptique équipée de trois tubes fluorescents (Philips, TLD 15 W / 05) émettant entre 300 nm et 450 nm avec un maximum situé vers 365 nm (cf. Figure 3-7 et Figure 3-8). Le réacteur de 1 L contenant la solution à irradier est en polypropylène et est doté d'un système de refroidissement par circulation d'eau froide dans un tube Teflon en spirale à l'intérieur du réacteur. Le réacteur est placé à l'extrémité opposée de l'enceinte où sont situés les néons.

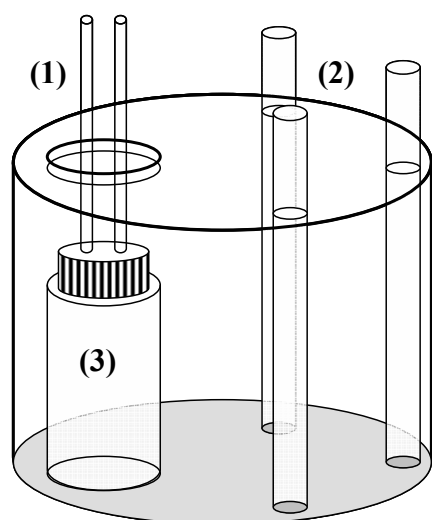


Figure 3-7 : Schéma de l'enceinte de modèle elliptique à 3 néons (1 : système de refroidissement interne– 2 : néons 15 W – 3 : réacteur 1 L).

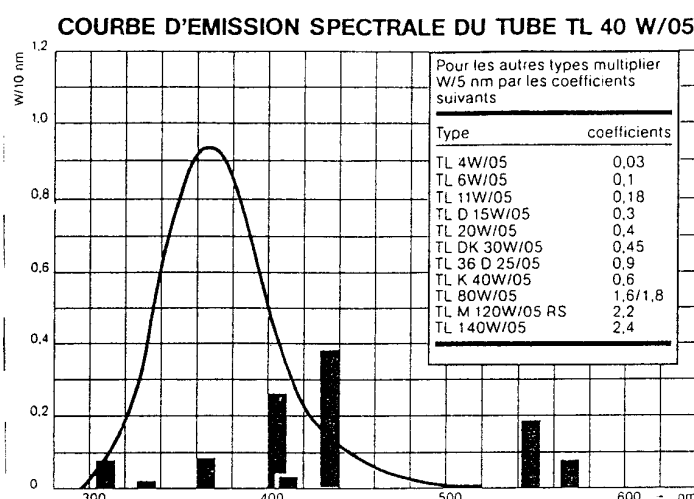


Figure 3-8 : Spectre d'émission des néons Philips, TLD 15 W / 05.

Ce modèle était doté d'un réacteur en polypropylène permettant d'éviter les phénomènes d'adsorption du fer sur les parois en pyrex des réacteurs utilisés généralement au LPMM. De ce fait, il a surtout été utilisé pour des irradiations de solution contenant du fer (« artificielles » ou échantillons de nuages). Il a surtout été utilisé en début de thèse et pour les irradiations ayant été pratiquées avant le début de la thèse par Angela Marinoni et moi-même.

3.4.1.2 Modèle cylindrique à 4 néons

Le passage au modèle suivant s'est opéré en début de thèse. Ce modèle a été conçu afin d'obtenir une plus grande intensité lumineuse avec une répartition plus homogène du rayonnement. De plus le système de refroidissement interne a été abandonné afin de favoriser l'homogénéisation de la solution à irradier en terme d'agitation et de rayonnement reçu.

Ce deuxième modèle est une enceinte réfléchissante à base circulaire équipée de quatre tubes fluorescents (Philips, TLD 15 W / 05) émettant entre 300 nm et 450 nm avec un maximum situé vers 365 nm (cf. Figure 3-9). Le réacteur de 1 L contenant la solution à irradier est en polypropylène ou en pyrex selon l'expérience et est doté d'un système de refroidissement par circulation d'eau froide dans une enveloppe en pyrex externe au réacteur. Le réacteur est placé au centre de l'enceinte à équidistance des néons qui sont répartis de façon homogène sur le pourtour de l'enceinte.

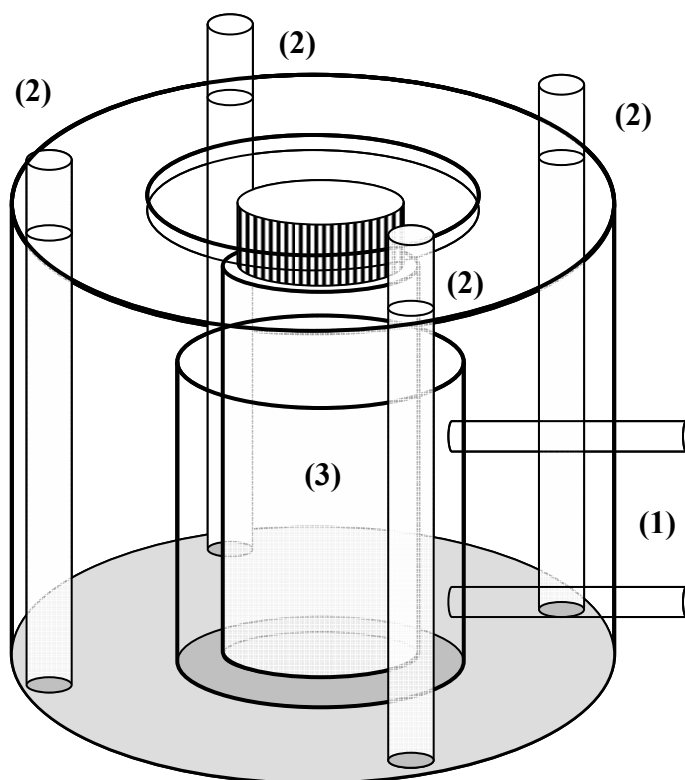


Figure 3-9 : Schéma de l'enceinte de modèle cylindrique à 4 néons (1 : système de refroidissement externe – 2 : néons 15 W – 3 : réacteur 1 L)

3.4.1.3 Modèle xénon

Pour l'irradiation des solutions artificielles des acides organiques nous avons développé un système plus puissant doté d'une lampe xénon irradiant à des longueurs d'ondes plus courtes et susceptibles d'augmenter de façon conséquente la photolyse du H_2O_2 et les cinétiques des réactions étudiées. De plus l'utilisation d'un faisceau incident unique peut permettre une modélisation plus aisée des réactions qui sont mise en jeux dans ce type de réacteur.

Ce troisième modèle (cf. Figure 3-10) est constitué d'une enceinte intégrant une lampe au xénon de 1000 W (cf. Figure 3-12). Le faisceau horizontal de la lampe est réfléchi par un miroir (cf. Figure 3-13) verticalement dans le réacteur (cf. Figure 3-11). Ce dernier d'un volume de 500 mL, est refroidi par circulation d'eau sur sa surface extérieure sauf pour sa face supérieure qui est munie d'une plaque en pyrex filtrant le faisceau lumineux émis par la lampe. De ce fait, le rayonnement arrivant au niveau de la solution à irradiée n'est significatif qu'au dessus de 290-300 nm ce qui permet d'éviter la photolyse directe de la plupart des composés organiques utilisés au cours de cette étude.

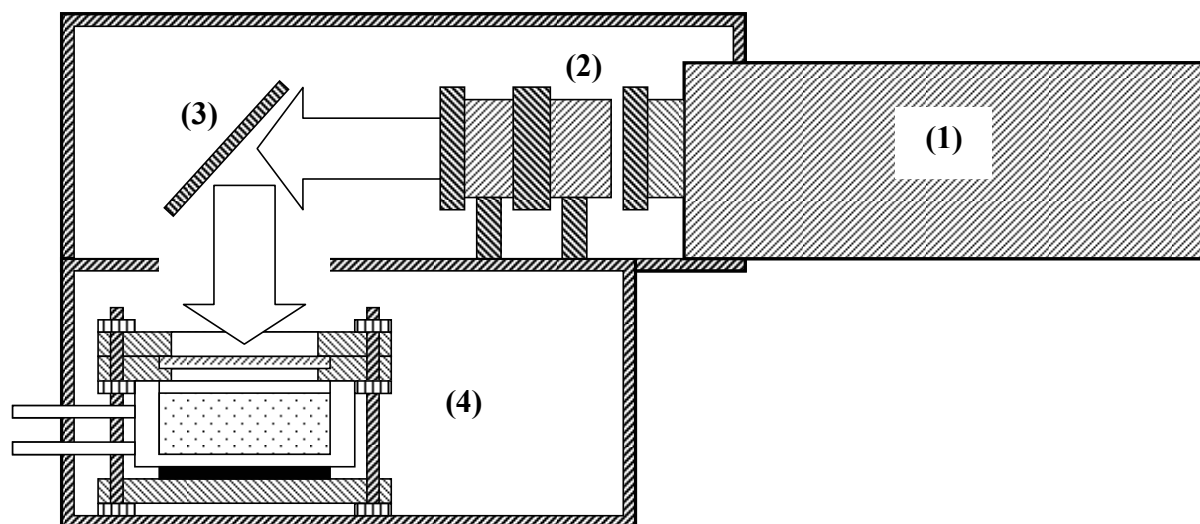


Figure 3-10 : Schéma de l'enceinte équipée d'une lampe xénon (vue de profil) (1 : lampe xénon 1000 W – 2 : filtre IR à eau – 3 : miroir – 4 : réacteur).

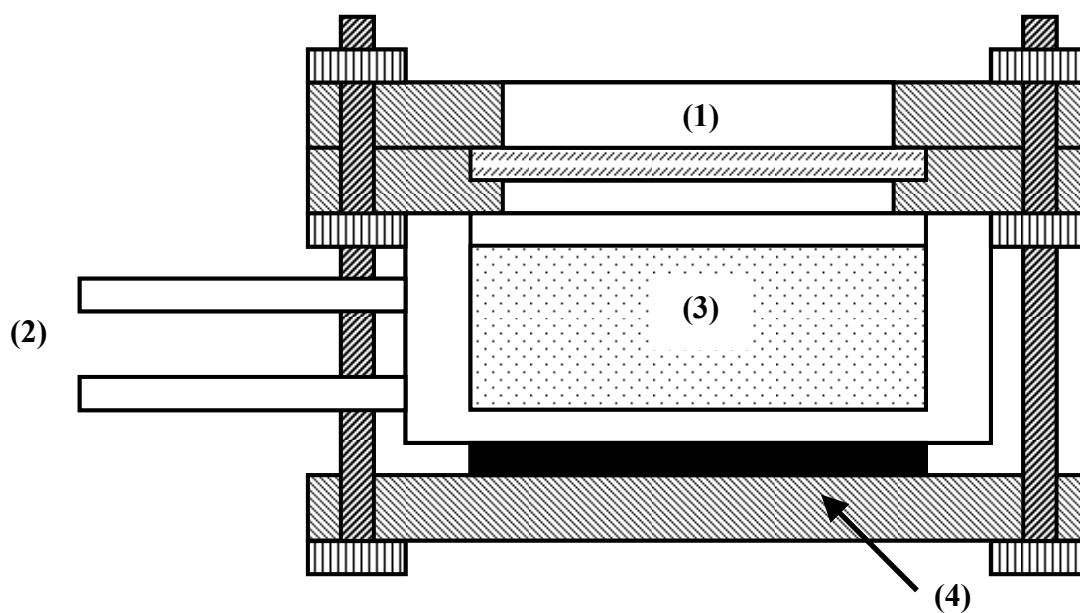


Figure 3-11 : Schéma du réacteur (vue de profil) (1 : verre pyrex – 2 : système de refroidissement – 3 : solution à irradier – 4 : agitateur magnétique).

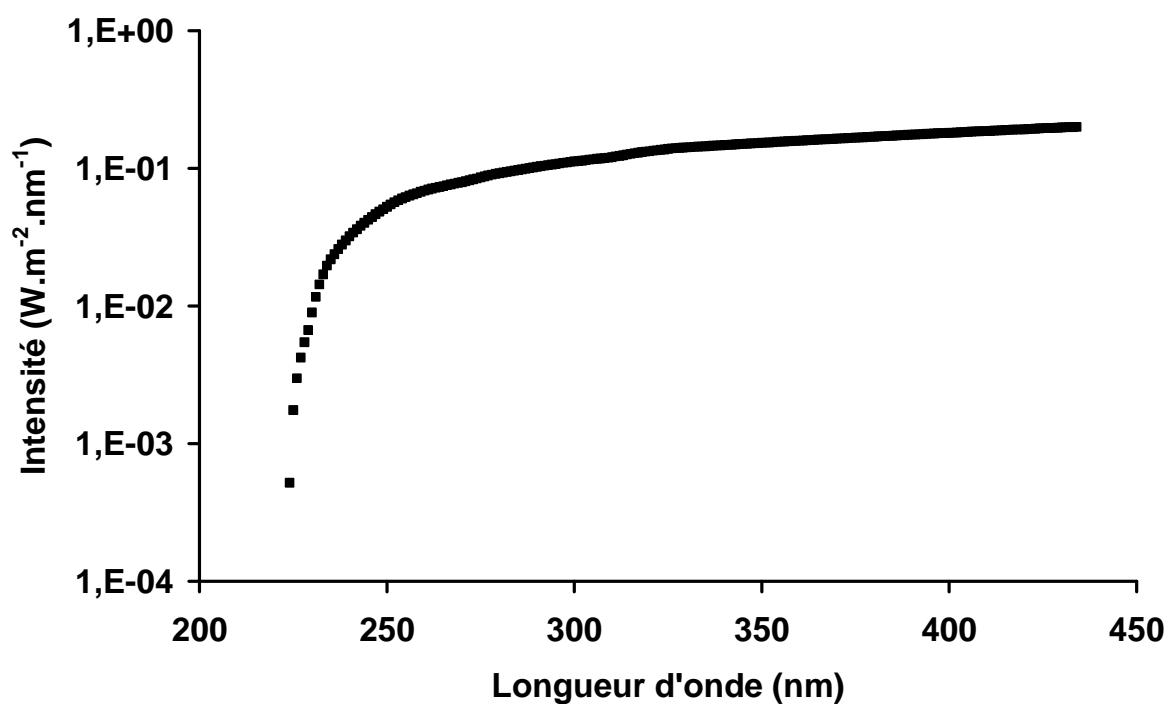


Figure 3-12 : Spectre d'émission de la lampe xénon utilisée dans nos irradiations (données constructeur).

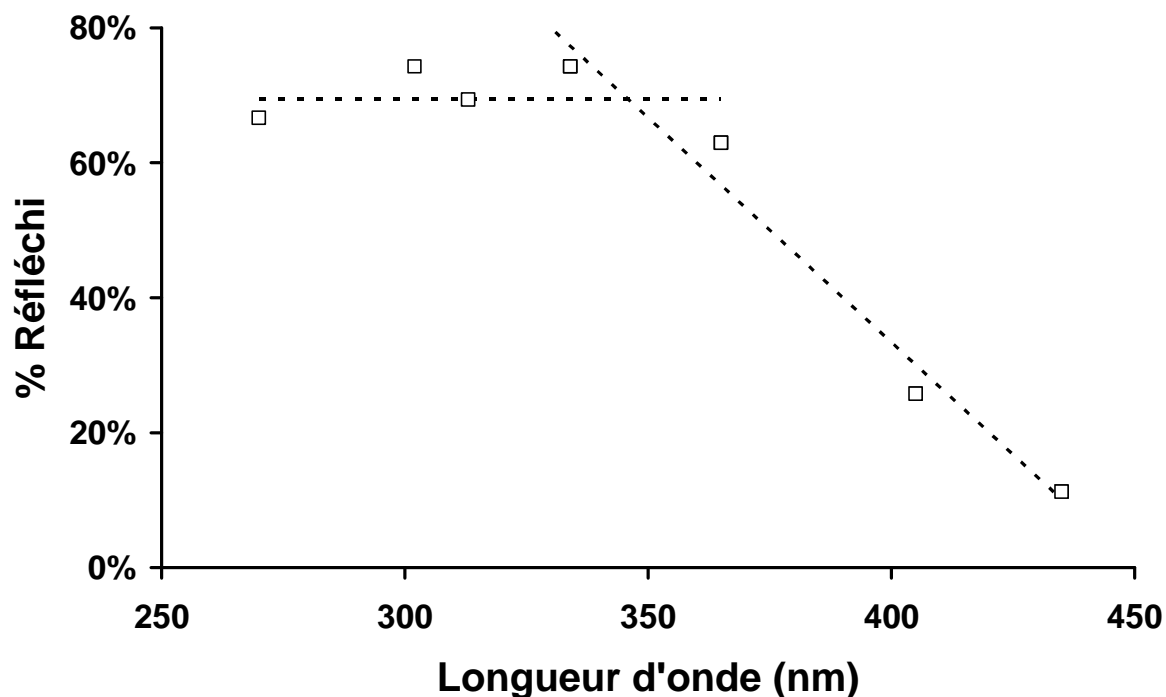


Figure 3-13 : Pourcentage de lumière réfléchi par le miroir en fonction de la longueur d'onde λ (nm) (points expérimentaux et droites utilisées pour l'actinométrie).

3.4.2 Actinométrie

Afin de calculer l'intensité du flux photonique de la lampe xénon (cf. 3.4.1.3) reçu dans notre réacteur, nous avons réalisé une actinométrie développée par Dulin and Mill, 1982 effectuée grâce au mélange p-Nitroanisole (PNA) / Pyridine (C_5H_5N) (cf. Figure 3-14). Cette expérience a été réalisée avec la collaboration de Matthieu Ménager en thèse au LPMM.

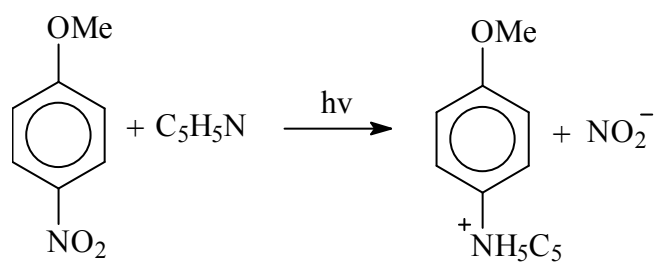


Figure 3-14 : Photolyse du PNA en présence de pyridine.

La vitesse de photolyse du PNA en présence de pyridine dépend presque exclusivement, en conditions expérimentales contrôlées, de la concentration de cette dernière. En effet, le rendement quantique de la disparition du PNA, $\Phi_{\text{PNA/PyR}}$, en présence de pyridine a été déterminé comme :

$$\Phi_{\text{PNA/PyR}} = 0,44 \times [\text{Pyridine}] + 0,00023 \quad (\text{Dulin and Mill, 1982})$$

On peut ainsi connaître la valeur du nombre de photons absorbés, I_a , par la molécule en revenant à la définition d'un rendement quantique :

$$I_a = \frac{\Delta N_{\text{PNA}}}{\Phi_{\text{PNA/PyR}}}$$

Avec ΔN_{PNA} le nombre de molécule de PNA disparue par unité de surface d et de temps en molécules. $\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. ΔN_{PNA} peut être déterminé par des irradiations du mélange PNA / Pyridine en prenant des concentrations initiales respectivement de 8,4 μM et 2,8 mM. Cette valeur d' I_a est ensuite sommée sur l'ensemble du recoupement entre le spectre d'absorption du PNA et le spectre solaire. On a donc :

$$I_a = \sum_{300\text{nm}}^{370\text{nm}} I_0(\lambda)(1 - 10^{-DO_\lambda}) = \alpha \times \sum_{300\text{nm}}^{370\text{nm}} I_{0(\text{estimée})}(\lambda)(1 - 10^{-DO_\lambda})$$

Avec $I_0(\lambda)$ l'intensité réelle du flux photonique et $I_{0(\text{estimée})}(\lambda)$ l'intensité relative du flux photonique au niveau des échantillons dans le réacteur pour une longueur d'onde λ en photon. $\text{cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$, DO la Densité Optique à une longueur d'onde λ et α la constante reliant ces deux valeurs.

On peut calculer l'intensité du flux photonique ($I_{0(\text{estimée})}(\lambda)$) pour chaque longueur d'onde grâce aux données du constructeur du spectre d'émission de la lampe xénon, à l'estimation de l'absorbance du filtre à eau en sortie de lampe, du rayonnement réfléchi par le miroir et par le rayonnement absorbé par la vitre en pyrex surplombant le réacteur. Après calcul de I_a , on obtient ainsi α , constante qui permet de passer de $I_{0(\text{estimée})}$ dans le réacteur à I_0 réelle. On peut ainsi déterminer la valeur du flux photonique à chaque longueur d'onde au niveau des échantillons irradiés.

L'utilisation de cette technique actinométrique se heurte à un grand nombre d'incertitudes puisque le spectre d'émission de la lampe n'est qu'un spectre moyen fourni par le constructeur, que le rayonnement réfléchi par le miroir n'est qu'estimé à partir de quelques longueurs d'onde et que de nombreux phénomènes tels que le rayonnement réfléchi par l'enceinte ne sont pas pris en compte. A titre indicatif cette expérience a permis d'estimer le flux actinique entre 300 nm et 370 nm reçu par la solution dans le réacteur à environ 1,5 fois celle reçue au sommet du puy de Dôme pour une journée ensoleillée d'été (soit 60 W.m^{-2} dans notre réacteur entre 300 nm et 370 nm contre 40 W.m^{-2} dans le spectre UV au sommet du puy de Dôme).

Cette expérience nous permet tout de même d'estimer la puissance de notre système d'irradiation par rapport au rayonnement solaire. Cette information est intéressante dans le cadre des expériences combinées de photochimie et de biocatalyse qui seront abordées ultérieurement. En effet pour pouvoir comparer des cinétiques obtenues avec une expérience photochimique et une expérience de biocatalyse, il est important de connaître la représentativité de chaque système.

4 Résultats

*« Un nuage, un nuage,
où s'endorment les images
du monde que j'ai quitté
un nuage, un nuage,
immobile dans l'été. »*

Poésies – Henri Thomas

« L'erreur est juste à 95% »

TP de chimie – Etudiant anonyme

4.1 Les prélèvements

Nous avons utilisé des analyses effectuées sur des prélèvements de phase aqueuse des nuages au sommet du puy de Dôme depuis 6 ans. Ceci représente une base de données de 43 événements nuageux prélevés comportant 181 échantillons. Ces événements nuageux représentent une large variété de situations permettant de définir une climatologie détaillée des nuages du site du puy de Dôme. Cette climatologie est une étude préliminaire nécessaire à l'étude de la réactivité de la phase aqueuse des nuages puisqu'elle est susceptible de l'influencer profondément. Cet aspect avait déjà été abordé en partie dans l'eau des nuages prélevée au puy de Dôme par Marinoni et *al.*, 2004 et avait permis de mettre en évidence entre autre l'influence anthropique qu'étaient susceptibles de subir certaines masses d'air échantillonnées au puy de Dôme. Cette influence anthropique montrait de fortes modifications de la chimie de l'eau nuageuse. En conséquence nous devons caractériser précisément la chimie de chaque masse d'air échantillonnée. De plus, nous avons taché d'apporter tout au long de cette étude de nouveaux paramètres mesurés susceptibles de mieux témoigner des variations de cette chimie (cf. Tableau 4-1).

On trouvera dans le Tableau 4-1 les différents événements référencés avec leur date de début et de fin de prélèvement ainsi que le nombre d'échantillons, l'origine dominante de la masse d'air et les principales analyses effectuées sur ces échantillons. On remarquera que nous avons cherché à multiplier autant que possible les analyses effectuées afin d'obtenir une description la plus complète de chaque masse d'air étudiée. Malheureusement, pour conduire l'ensemble des analyses que nous étions susceptibles de réaliser pour un même échantillon, les volumes de phase aqueuse troposphérique étaient souvent bien trop faibles nous obligeant parfois à faire des choix. En effet nous devons disposer d'un volume suffisant d'échantillons pour pouvoir conduire des expériences en laboratoire qui nécessitent plusieurs centaines de millilitres de solution aqueuse.

Les événements ayant été prélevés de manière conjointe en terme d'analyses microbiologiques et chimiques sont les événements #21 à #40 à l'exclusion des événements #26, #27 et #35.

N°	Date Début	Date Fin	Nombre Echantillons	Origines Dominantes	pH	Conductivité	Pot. Rédox	Spé. Fer	H ₂ O ₂	TOC	H ₂ CO	Chromatographie Ionique	Microbiologie
1	08/02/2001	09/08/2001	6	NO				■				■	
2	13/02/2001	13/02/2001	9	N				■				■	
3	17/02/2001	18/02/2001	11	N/NE	■			■				■	
4	22/02/2001	24/02/2001	18	N	■			■				■	
5	28/02/2001	01/03/2001	13	O/NO	■			■				■	
6	02/03/2001	03/03/2001	8	SO	■			■		■		■	
7	08/03/2001	08/03/2001	2	O	■			■				■	
8	05/04/2001	05/04/2001	1	SO				■		■		■	
9	14/02/2002	14/02/2002	1	NE	■			■	■	■		■	
10	22/02/2002	22/02/2002	1	O	■			■				■	
11	27/02/2002	27/02/2002	1	SO	■			■	■	■		■	
12	28/02/2002	28/02/2002	1	O	■			■	■	■		■	
13	07/03/2002	07/03/2002	1	NO	■			■	■	■		■	
14	13/04/2002	14/04/2002	3	N	■			■	■	■		■	
15	26/04/2002	26/04/2002	1	O	■			■		■			
16	03/05/2002	03/05/2002	1	O	■			■	■	■		■	
17	11/05/2002	11/05/2002	1	NO	■			■	■	■		■	
18	30/04/2003	30/04/2003	1	O	■			■	■		■		
19	06/05/2003	06/05/2003	1	S	■			■	■		■		
20	10/05/2003	10/05/2003	1	SO	■			■	■	■	■		
21	11/12/2003	12/12/2003	10	O	■			■	■	■	■		■
22	14/01/2004	15/01/2004	9	O	■			■	■	■	■		■
23	20/01/2004	21/01/2004	10	NO	■	■	■	■	■	■	■		■
24	16/02/2004	16/02/2004	2	NE	■	■	■	■	■	■	■		■
25	17/02/2004	18/02/2004	4	NE	■	■	■	■	■	■	■		■
26	08/03/2004	08/03/2004	5	NE	■	■	■	■	■	■	■		
27	06/04/2004	06/04/2004	5	O	■	■	■	■	■	■	■		
28	22/04/2004	23/04/2004	3	NO	■	■	■	■	■	■	■		■
29	25/06/2004	25/06/2004	2	O	■	■	■	■	■	■	■		■
30	08/07/2004	08/07/2004	1	O	■	■	■	■	■	■	■		■
31	23/09/2004	24/09/2004	4	NO	■	■	■	■	■	■	■	■	■
32	17/11/2004	17/11/2004	3	NO	■	■	■	■	■	■	■	■	■
33	16/12/2004	17/12/2004	4	O	■	■	■	■	■	■	■	■	■
34	19/01/2005	19/01/2005	4	NO	■	■	■	■	■	■	■	■	■
35	20/03/2005	20/03/2005	1	Conditions de prélèvement non satisfaisantes									
36	18/04/2005	18/04/2005	3	SO	■	■	■		■		■	■	■
37	22/05/2005	23/05/2005	6	O	■	■	■			■	■	■	■
38	06/06/2005	07/06/2005	5	O	■	■	■		■		■	■	■
39	28/09/2005	29/09/2005	4	O	■	■	■		■	■	■	■	■
40	03/10/2005	04/10/2005	6	NE	■	■	■		■	■	■	■	■
41	18/10/2005	18/10/2005	2	SO	■	■	■		■	■	■	■	
42	18/09/2006	18/09/2006	2	O	■		■			■	■	■	
43	04/10/2006	04/10/2006	4	O	■		■		■	■	■	■	

Tableau 4-1 : Tableau bilan des mesures effectuées pour les différents événements nuageux au sommet du puy de Dôme au cours de campagnes d'échantillonnage entre 2001 et 2006 (les événements jusqu'au #17 inclus ont été abordés par Marinoni *et al.*, 2004).

4.2 Climatologie des nuages au sommet du puy de Dôme

Afin de mettre en évidence un éventuel impact des activités humaines sur la chimie, la photochimie et la microbiologie des nuages il est nécessaire de bien connaître l'effet de l'origine des masses d'air sur la composition chimique des gouttelettes de nuage. Les résultats précédemment obtenus sur le site du puy de Dôme (pdD) et présentés notamment par Marinoni *et al.*, 2004 sont intégrés à ceux discutés ci-après.

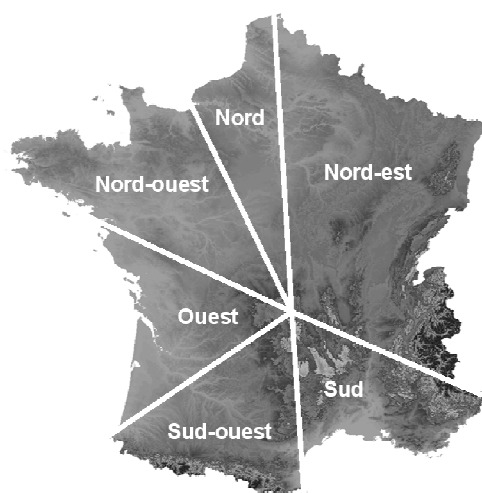


Figure 4-1 : Orientations des différentes masses d'air utilisées dans cette étude.

La Figure 4-1 montre les délimitations des différents secteurs que nous avons établis plus en détail après ces 6 années de prélèvements. Ils sont donc utilisés pour classer les origines des masses d'air prélevées au puy de Dôme (pdD) en fonction des rétrotrajectoires. Le choix de ces secteurs s'est effectué en fonction de trois types d'influences de sources de composés chimiques possibles pour les masses d'air : océanique, continentale et anthropique. Le secteur ouest est celui qui devrait le plus bénéficier de l'influence océanique. Les secteurs nord-est et sud-ouest devraient le plus bénéficier des influences anthropiques et continentales. La répartition des échantillons selon les différentes origines est de 10% pour le sud-ouest, 34% pour l'ouest, 19% pour le nord-ouest, 20% pour le nord et de 13% pour le nord-est, les flux de sud ne recouvrant qu'un seul échantillon (de l'événement #19). Enfin 3 échantillons ont des origines peu identifiables avec une forte influence anthropique associée à une

influence très locale (au cours de l'événement #5) et un échantillon n'est pas conservé dans le traitement des données du fait de ses conditions d'échantillonnage non satisfaisantes (#35).

4.2.1 Variabilité de la phase aqueuse des nuages

L'analyse de la variabilité des mesures physicochimiques conduites sur la phase aqueuse des nuages au puy de Dôme depuis 2001 montre que celle-ci est plus importante entre les différents événements plutôt qu'au sein d'un même événement. Chaque événement nuageux constitue donc un ensemble relativement homogène (par rapport à la variabilité totale de notre base de donnée). Cependant, il arrive que dans un événement donné on constate une évolution conséquente d'un ou plusieurs paramètres. Ces variations ont toujours pu être attribuées à des changements d'orientation de la masse d'air qui en modifient la composition chimique.

L'évolution de la composition chimique des nuages depuis 2001 ne montre pas de tendance du fait de la discontinuité de la série de données et de la grande variabilité entre chaque événement nuageux qui semble être plus attribuable à une modification de l'origine de la masse d'air.

L'évolution annuelle pouvant mettre en évidence une variation saisonnière se heurte aux mêmes limitations. Ainsi malgré le fait que de nombreux phénomènes photochimiques ou de changement de source devraient avoir un impact sur la saisonnalité de certains paramètres, peu de variabilité a pu être constatée à cette échelle.

Bien entendu, malgré l'importance de notre base de donnée, il est toujours possible que cette variabilité n'ait pas pu être mise en évidence du fait de l'absence de tel ou tel paramètre à un moment clef (notamment la LWC qui permet de raisonner en terme de concentration par volume d'air) ou du manque de données corrélables entre elles (par exemple une évolution temporelle pour un type de masse d'air particulier). De plus, il existe un certain nombre de paramètres ayant potentiellement un impact sur la chimie de la phase aqueuse du nuage pour lesquels nous n'avons pas de données. Par exemple le caractère convectif d'une masse d'air ou encore notre position dans le nuage ne sont pas connus et sont pourtant susceptibles d'avoir un impact sur la chimie des gouttelettes de nuage. Dans la perspective de l'amélioration de notre base de données, il serait intéressant de corréler les résultats chimiques et microbiologiques au caractère convectif des masses d'air échantillonnée notamment par une étude des mesures de ^{210}Pb .

4.2.2 Paramètres physicochimiques

4.2.2.1 pH

Le pH mesuré sur 131 échantillons présente une valeur moyenne de 5,5 avec une valeur médiane de 5,6 et un écart-type de 0,8 sur un intervalle de 3,1 à 7,6. Les nuages prélevés au pdD présentent donc une large gamme de pH représentative des résultats obtenus dans les hydrométéores au cours d'autres campagnes de mesure et sur d'autres sites (cf. Tableau 2-2). La moyenne et la médiane qui ont des valeurs proches ainsi que la faible dispersion du premier et troisième quartile (respectivement 5,1 et 5,9) montre que la plupart des nuages échantillonnés au pdD ne sont pas sous une forte influence anthropique.

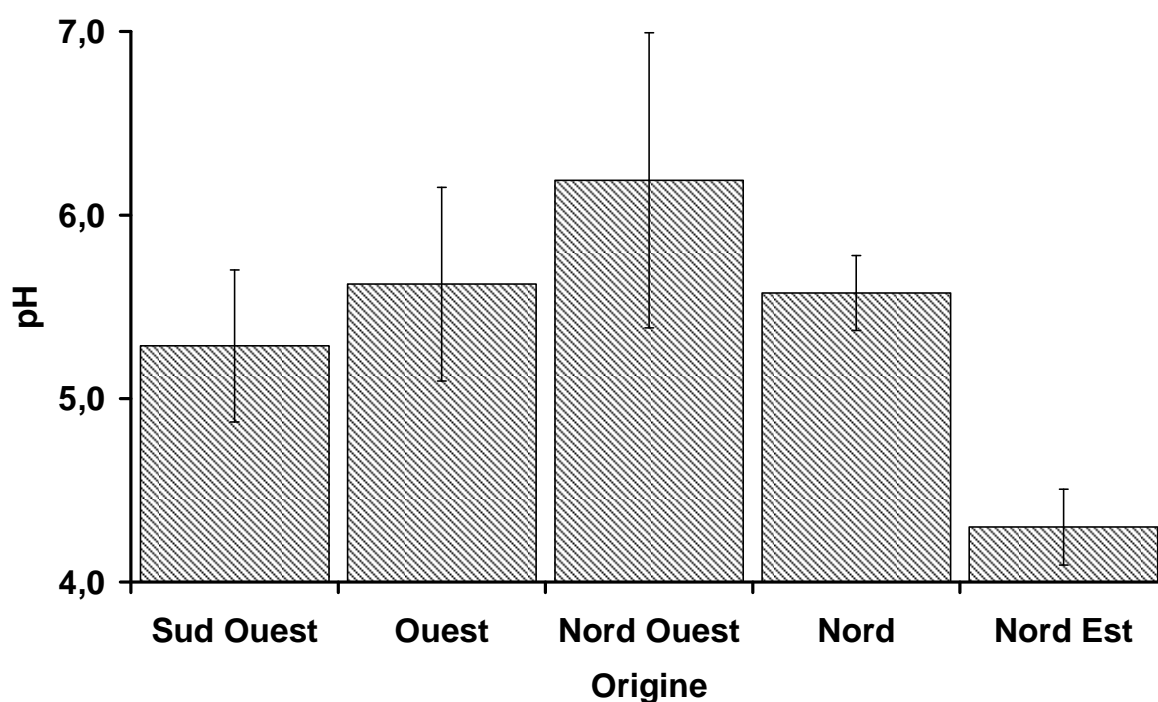


Figure 4-2 : Variations du pH dans les échantillons de nuage selon l'origine de la masse d'air.

Les valeurs du pH sont très nettement influencées par l'origine des masses d'air (cf. Figure 4-2). On voit clairement l'influence anthropique pour les masses d'air en provenance du nord-est et de manière moins évidente pour celles en provenance du sud-ouest et donc de la péninsule ibérique qui est bien moins industrialisée que les régions du nord-est de l'Europe. Les masses d'air originaires du sud ne sont pas indiquées dans la Figure 4-2 car elles ne sont représentées que par un unique échantillon possédant un pH relativement élevé égal à 7,3 qui s'explique certainement par la forte composante alcaline des aérosols d'origine saharienne.

4.2.2.2 Potentiel d'oxydoréduction

Le potentiel d'oxydoréduction (ou rédox) mesuré sur 77 échantillons présente une valeur moyenne de 289 mV avec une valeur médiane de 290 mV et un écart-type de 76 mV sur un intervalle de 76 mV à 470 mV. Ces mesures sont en accord avec les seules données disponibles dans la littérature de 200 mV à 500 mV trouvées par Sinner *et al.*, 1994. Il faut noter que pour replacer ce potentiel dans une échelle de potentiel d'oxydoréduction classique, dont la référence est l'électrode d'hydrogène, il faut ajouter 240 mV à nos mesures effectuées avec une électrode au calomel.

L'étude conjointe des évolutions du pH et du potentiel d'oxydoréduction mesurés montre une tendance à une évolution commune (cf. Figure 4-3). Ceci semble suggérer que le pH est l'élément déterminant pour l'évolution du potentiel d'oxydoréduction dans la phase aqueuse des nuages prélevée au pdD. Cependant, parmi les composés mesurés dans nos échantillons le peroxyde d'hydrogène est celui qui possède le potentiel d'oxydoréduction le plus élevé (cf. [107]) :



Si ce composé domine le potentiel d'oxydoréduction du nuage, on devrait pouvoir exprimer le potentiel mesuré (E_h en V) de la manière suivante :

$$E_h = (1,78 - 0,059 \times (2 \times \text{pH} + \log([H_2O_2]))) - 0,24$$

Où $[H_2O_2]$ représente la concentration en H_2O_2 exprimée en mol.L^{-1} . Les valeurs obtenues ainsi semblent évoluer de manière assez semblable au potentiel mesuré mais sont près de deux fois plus importantes que ce dernier. Cette différence entre le potentiel mesuré et celui calculé montre que le H_2O_2 n'est pas la seule espèce à considérer pour l'analyse du potentiel rédox de la phase aqueuse des nuages. De plus, le remplacement des valeurs de H_2O_2 par une valeur fixe modifie peu le potentiel rédox calculé. Ceci met en évidence le rôle prépondérant du pH par rapport au H_2O_2 pour l'influence de ce potentiel rédox calculé. Ceci peut être relié à la présence d'autres espèces intervenant à la fois dans les équilibres acido-basiques et rédox tels HNO_3 , $HONO$ ou encore H_2SO_4 . On peut donc avoir une idée assez précise du potentiel rédox par une simple mesure du pH et réciproquement.

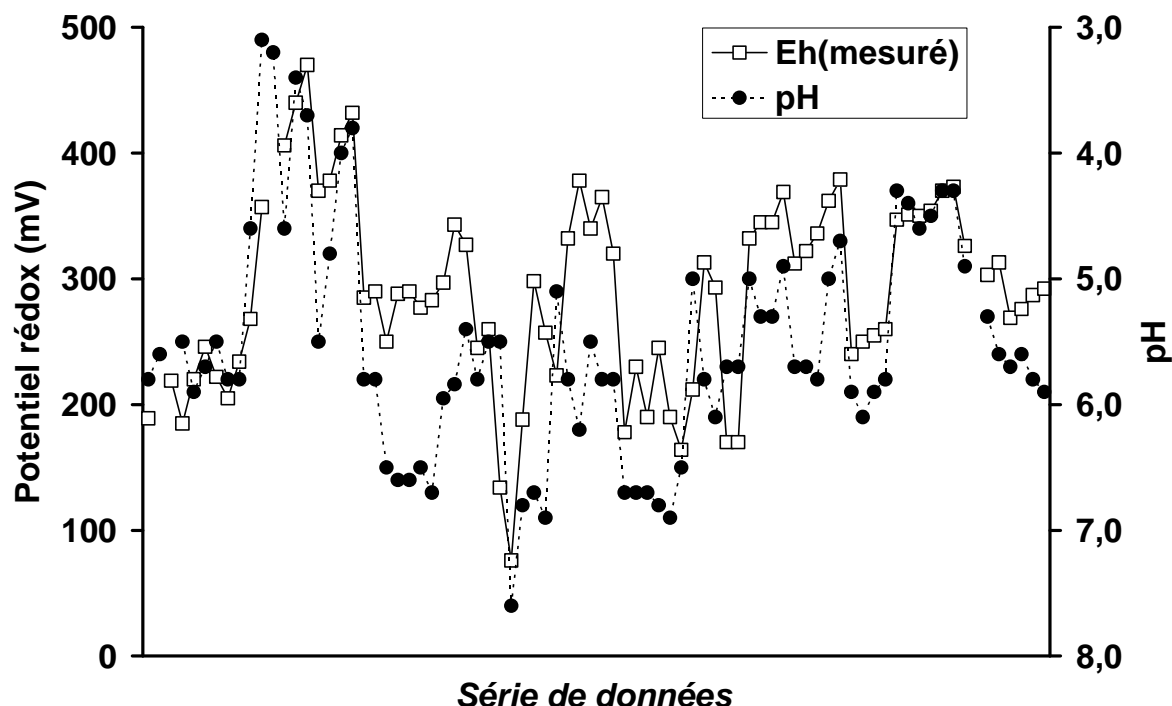


Figure 4-3 : Coévolution du pH et du potentiel d'oxydoréduction (ou rédox) (E_h).

4.2.2.3 Conductivité

La conductivité mesurée dans 72 échantillons présente une valeur moyenne de $53 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ avec une valeur médiane de $28 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ et un écart-type de $67 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ sur un intervalle de $4 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ à $348 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$. Ce paramètre montre une grande hétérogénéité illustrée par les différences observées entre les valeurs moyenne et médiane ainsi que par les valeurs du premier et du troisième quartile (respectivement $15 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ et $59 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$). En utilisant les conductivités molaires (cf. 2.1.2.4 et Tableau 2-4) des ions majeurs mesurés dans nos échantillons de nuage et en approximant les concentrations en H_3O^+ et OH^- grâce au pH mesuré, nous pouvons calculer une conductivité relativement bien corrélée à la conductivité mesurée (cf. Figure 4-4). Ceci montre que le pH et les ions Cl^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , Na^+ , NH_4^+ , K^+ et Ca^{2+} utilisés dans ce calcul influencent majoritairement la conductivité de la phase aqueuse des nuages prélevée au pdD. Ceci nous permet de calculer la conductivité théorique des échantillons disposant d'analyses en chromatographie ionique pour lesquelles elle n'avait pas pu être mesurée.

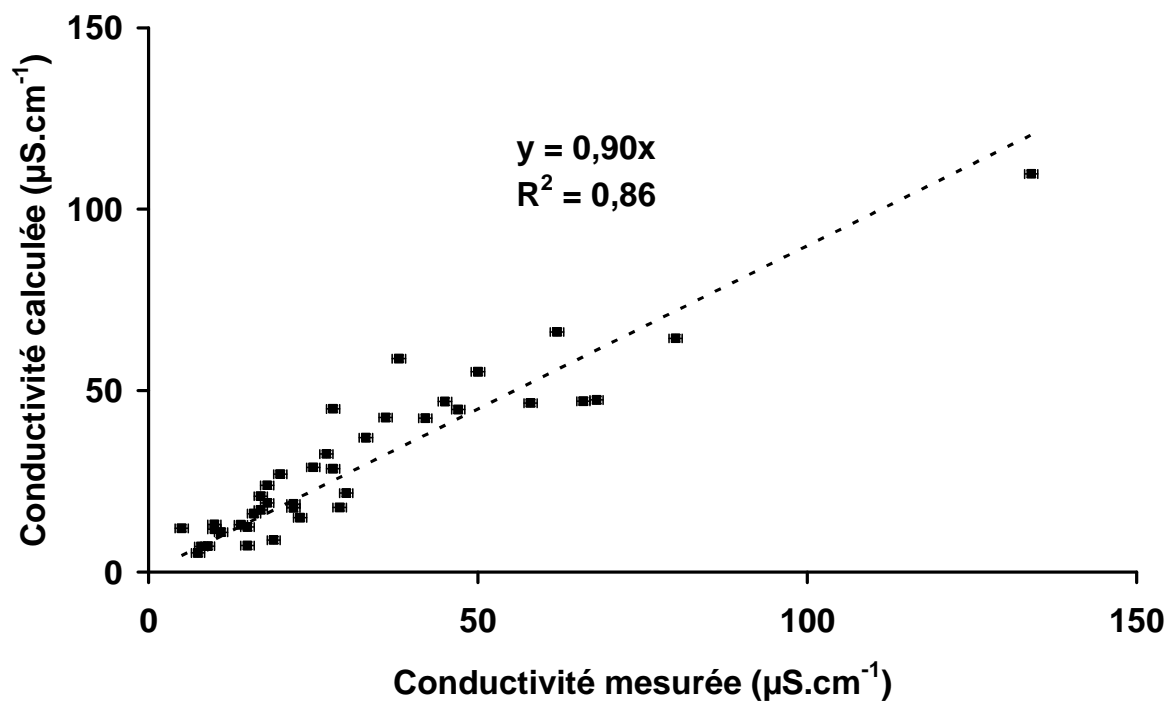


Figure 4-4 : Corrélation entre les conductivités mesurées et calculées à partir des ions majeurs.

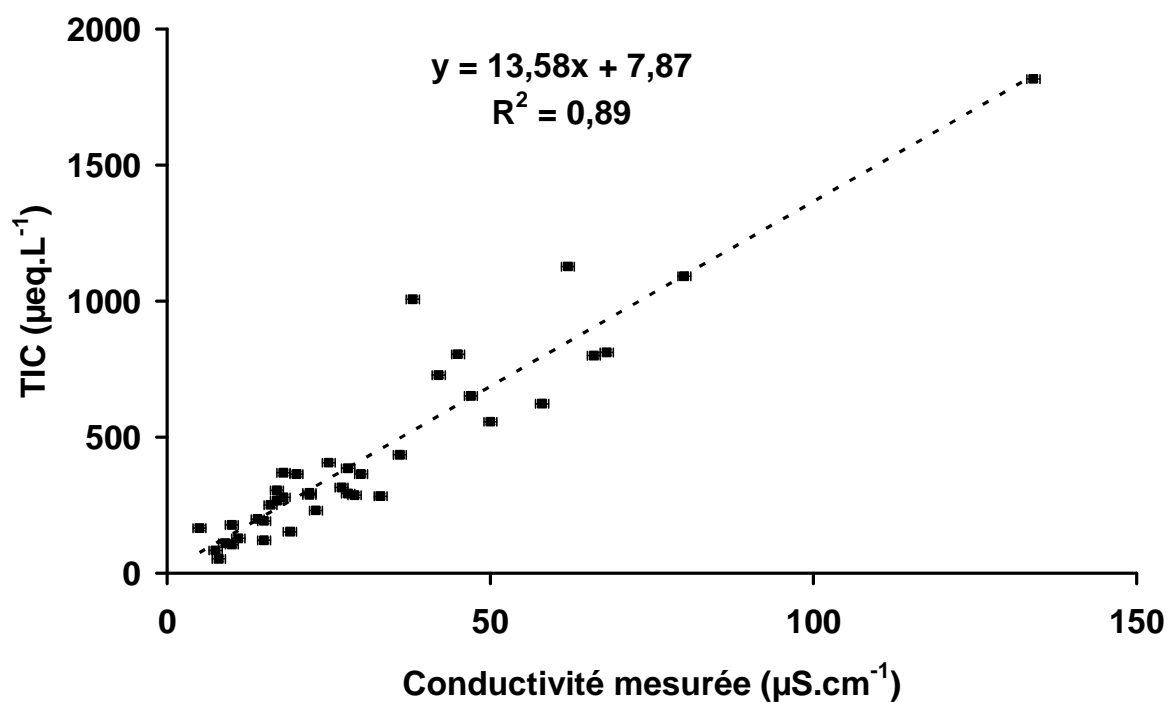


Figure 4-5 : Corrélation entre la conductivité mesurée et le contenu total en ion (TIC).

Comme on peut s'y attendre la conductivité mesurée est bien corrélée au contenu total en ions (cf. Figure 4-5 et avec un coefficient de corrélation linéaire de Pearson de 0,94). Ce résultat montre qu'une mesure de conductivité peut donner une idée assez précise de la composition ionique globale de la phase aqueuse du nuage. En vertu de quoi les observations effectuées sur la climatologie du contenu total en ions (cf. paragraphes suivants) sont aussi valables pour la conductivité mesurée, ces deux paramètres évoluant de manière conjointe.

4.2.3 Espèces inorganiques ioniques

4.2.3.1 Contenu total en ions

Le contenu total en ions mesuré dans 120 échantillons présente une valeur moyenne de $474 \mu\text{eq.L}^{-1}$ avec une valeur médiane de $310 \mu\text{eq.L}^{-1}$ et un écart-type de $658 \mu\text{eq.L}^{-1}$ montrant la grande hétérogénéité de ces valeurs ce qui est confirmé par les valeurs minimales et maximales qui sont égales à $20 \mu\text{eq.L}^{-1}$ et $5762 \mu\text{eq.L}^{-1}$ respectivement. Les valeurs des premier et troisième quartiles sont respectivement de $162 \mu\text{eq.L}^{-1}$ et de $610 \mu\text{eq.L}^{-1}$ montrant l'existence d'un grand nombre d'événements présentant des valeurs extrêmes.

Comparées aux valeurs obtenues par Marinoni *et al.*, 2004, les valeurs mesurées dans la phase aqueuse des nuages prélevée à partir de 2004 sont assez similaires en terme de valeurs moyennes et médianes. Après l'incorporation des données des événements postérieurs au #31 (inclus), on remarque la présence d'un plus grand nombre d'événements sous influence océanique avec des valeurs moyennes et médianes de Na^+ et Mg^{2+} deux fois plus importantes. Les valeurs présentées dans le Tableau 4-2 tiennent compte de l'ensemble des échantillons analysés depuis 2001 et incluent en conséquence les valeurs reportées par Marinoni *et al.*, 2004.

	nb	Moyenne	Médiane	Ecart-type	Min	Max	1 ^{er} Quartile	3 ^{ème} Quartile
Cl^-	120	66,1	22,4	188,4	0,5	1948,9	9,9	57,7
NO_3^-	120	88,4	43,7	125,4	0,8	766,8	19,5	89,3
SO_4^{2-}	120	38,3	27,8	52,5	1,9	369,5	11,8	41,8
Na^+	120	59,0	21,0	102,4	0,4	678,6	7,2	55,1
NH_4^+	120	122,5	70,0	225,2	6,3	1801,7	46,7	132,2
K^+	120	4,6	2,3	11,5	0,1	124,1	1,5	4,4
Mg^{2+}	120	6,8	3,3	9,2	b.d.l.	47,9	1,1	7,9
Ca^{2+}	120	12,5	6,2	15,9	b.d.l.	74,8	2,6	15,1

Tableau 4-2 : Concentrations molaires (μM) des principaux ions inorganiques mesurés dans la phase aqueuse des nuages du pdD (b.d.l. = inférieur à la limite de détection).

Ce contenu total en ions ne présente pas de réelle tendance selon l'origine de la masse d'air sauf si on le considère en terme de concentration par volume d'air (nmol.m^{-3}) en utilisant le contenu en eau liquide. Dans ce cas les masses d'air en provenance du nord-est se distinguent nettement des autres masses d'air avec un contenu total en ion par m^3 près de trois à quatre fois plus important en moyenne par rapport à celui des autres origines (cf. Figure 4-6).

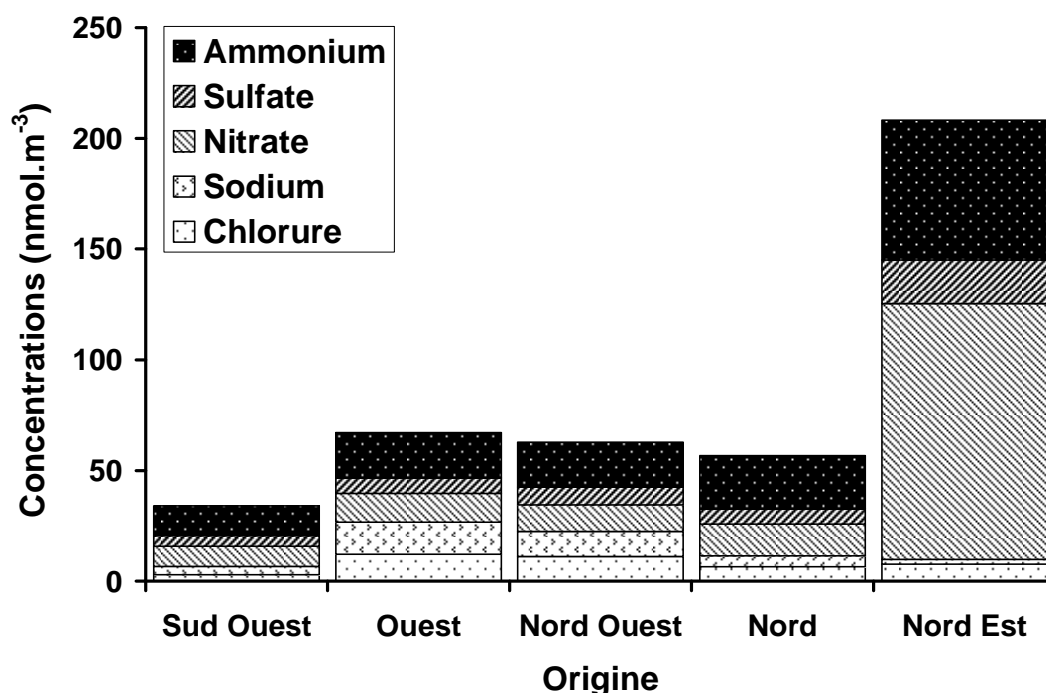


Figure 4-6 : Concentrations ioniques par volume d'air (en nmol.m^{-3}) en fonction de l'origine des masses d'air.

Comme cela avait été observé par Marinoni *et al.*, 2004 le contenu total en ions ne présente pas de corrélation avec le contenu en eau liquide de la masse d'air. Ceci peut s'expliquer notamment par les apports de la phase gazeuse interstitielle interférant avec la corrélation entre espèces ioniques solubilisées de l'aérosol et taille des gouttelettes du nuage. L'importance de cette contribution gazeuse pour les espèces ioniques avait été mise en évidence par Sellegri *et al.*, 2003(c) particulièrement pour les NO_3^- , NH_4^+ et SO_4^{2-} .

4.2.3.2 Composante océanique

L'influence océanique des masses d'air en provenance de l'ouest et du nord-ouest est très nette dans nos échantillons si l'on considère la part du Na^+ dans le contenu total en ions (cf. Figure 4-7). Pour ces masses d'air ce paramètre représente entre 10% et 30% du contenu total en ions alors que pour les autres masses d'air il est toujours inférieur à 10%.

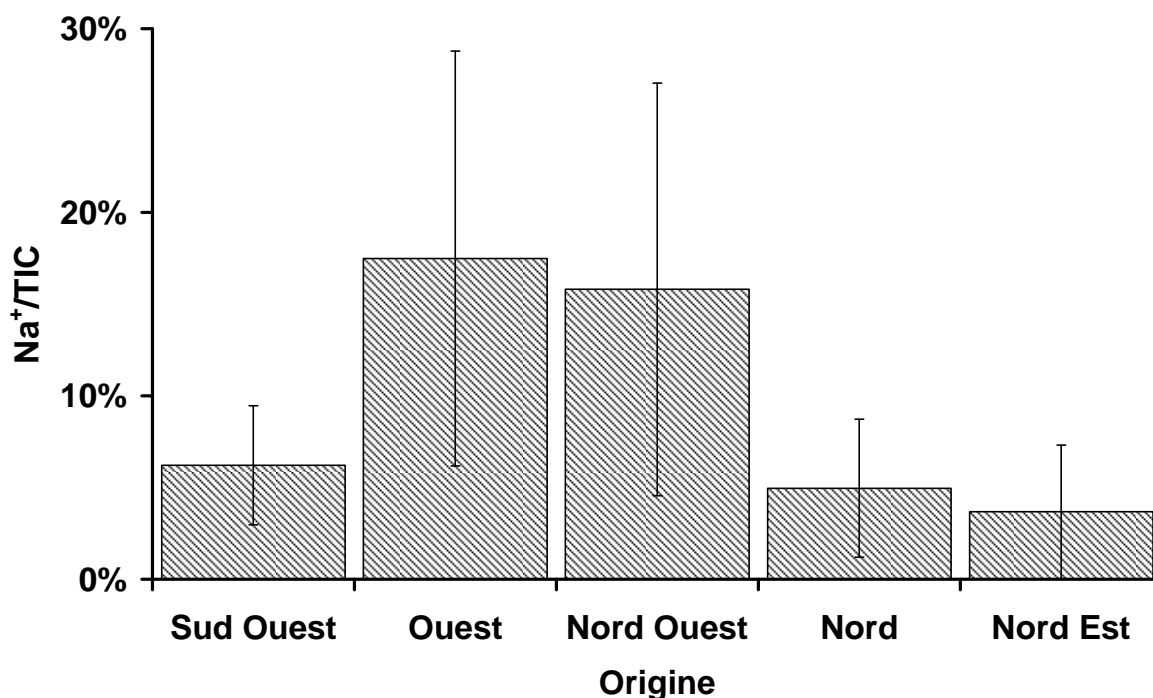


Figure 4-7 : Part du Na^+ dans le contenu total en ions (TIC) selon l'origine de la masse d'air.

L'équilibre marin entre le Cl^- et le Na^+ est rarement vérifié et les pertes en chlorures sont généralement assez importantes mais ne peuvent pas être directement corrélées à un autre paramètre chimique tel que le SO_4^{2-} ou encore le NO_3^- (cf. 2.1.3.2.1). Ceci s'explique par l'histoire des masses d'air échantillonnées qui ont eu l'occasion de subir de nombreux cycles de condensation et d'évaporation résultant en un dégazage important de HCl au cours de l'incorporation de H_2SO_4 et HNO_3 mais aussi des acides carboxyliques et de manière générale de tous les composés apportant de l'acidité à la masse d'air. Cependant les pertes en chlorures sont généralement caractéristiques des masses d'air de la façade ouest (sud-ouest à nord-ouest), alors que les masses d'air en provenance du nord et du nord-est présentent parfois des gains en chlorures assez importants qui peuvent être dues à la solubilisation de HCl gazeux. En effet selon Sellegri *et al.*, 2003(c) 75% du HCl aqueux prend sa source dans la phase gazeuse interstitielle.

Généralement le Mg^{2+} respecte l'équilibre marin avec le Na^+ , l'enrichissement d'autres origines étant toujours inférieur à 50%. Bien entendu cet enrichissement par rapport à l'équilibre marin est d'autant moins important que la masse d'air est d'origine océanique (ouest et nord-ouest).

4.2.3.3 Composante anthropique

4.2.3.3.1 Nitrate

L'élément le plus révélateur de l'influence anthropique dans nos échantillons, en dehors du pH, est la part du NO_3^- dans le contenu total en ions (cf. Figure 4-8). En effet ce paramètre est celui qui est le mieux corrélé au pH et qui montre le plus nettement l'influence des masses d'air en provenance du nord-est. Dans ce cas le NO_3^- représente entre 20% et 55% du contenu total en ions alors que pour une masse d'air en provenance de l'ouest il représente seulement de 5% à 20% du contenu total en ions. Cette tendance du NO_3^- à être un meilleur indicateur que les autres composés ioniques majoritaires généralement associés à la composante anthropique (SO_4^{2-} et NH_4^+) avait été observée par Sellegri *et al.*, 2003(a) dans les aérosols échantillonnés au puy de Dôme. La contribution de la solubilisation depuis les aérosols avait été estimée à près de 50% pour les NO_3^- présents en phase aqueuse par Sellegri *et al.*, 2003(c) avec un équilibre de Henry presque toujours atteint par rapport au HNO_3 gazeux.

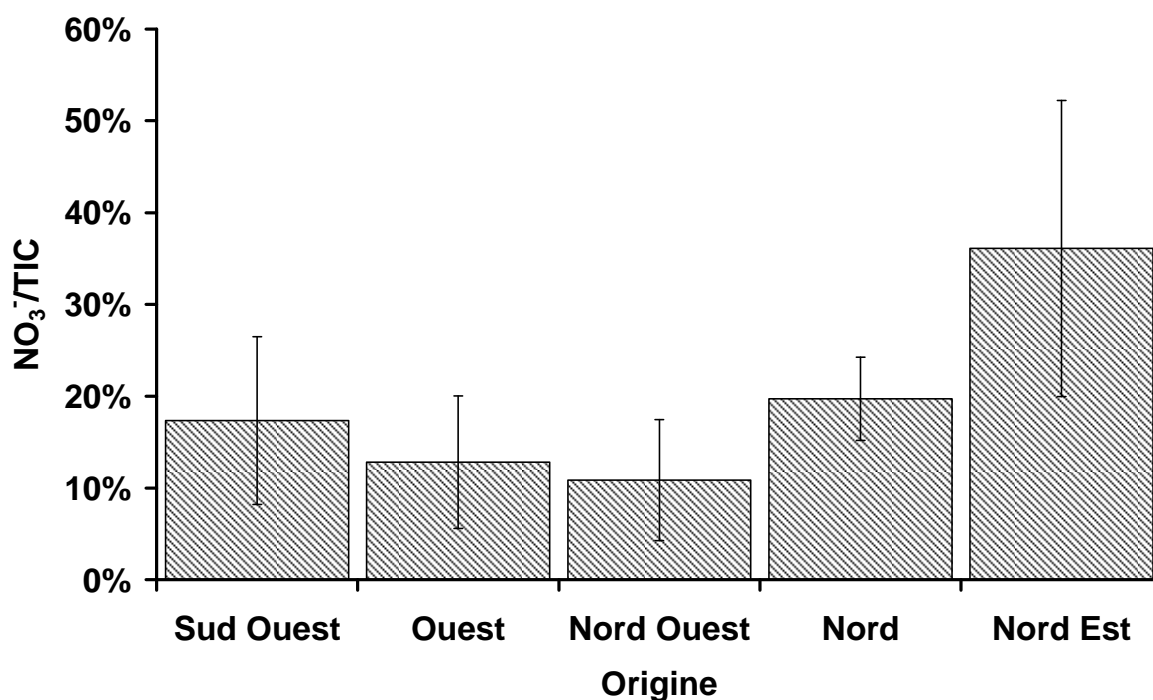


Figure 4-8 : Part du NO_3^- dans le contenu total en ions (TIC) selon l'origine de la masse d'air.

4.2.3.3.2 Ammonium

L'ammonium montre des tendances assez similaires mais beaucoup moins nettes (cf. Figure 4-9) avec un pourcentage moins important pour les masses d'air en provenance du nord-est par rapport au NO_3^- . Les plus forts pourcentages se retrouvent dans les masses d'air du nord. Cependant il est important de noter que son influence dans le contenu total en ions est très importante puisqu'il représente en moyenne entre 1/4 et 1/3 des ions en solution. Ceci confirme bien le rôle essentiel de ce composé comme base compensant l'acidité apportée par de nombreux composés atmosphériques tels les SO_4^{2-} et les NO_3^- avec lesquels il est relativement bien corrélé (cf. Figure 4-10 et coefficients de Pearson respectivement de 0,94 et 0,85). De plus, l'ammonium est une source potentielle d'azote pour de nombreux microorganismes (selon leur métabolisme). L'azote est un élément essentiel au développement des organismes vivants et l'ammonium est suspecté par Hill *et al.*, 2007 de permettre le développement *in situ* de bactéries dans les nuages.

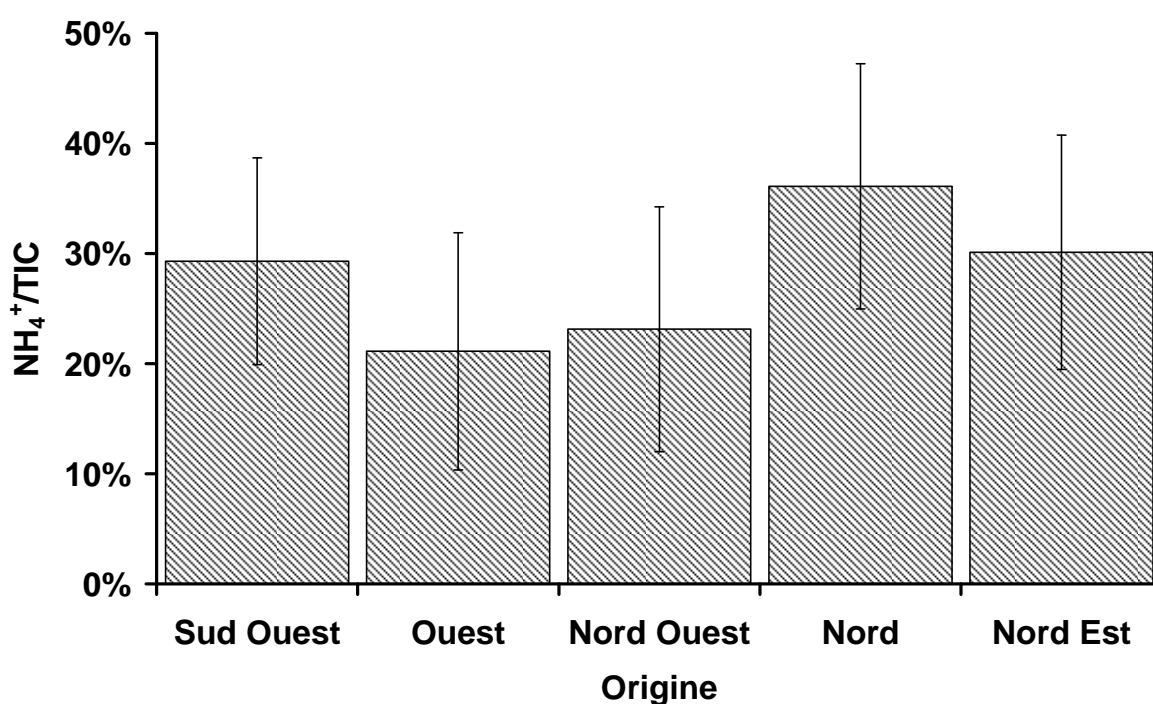


Figure 4-9 : Part du NH_4^+ dans le contenu total en ions (TIC) selon l'origine de la masse d'air.

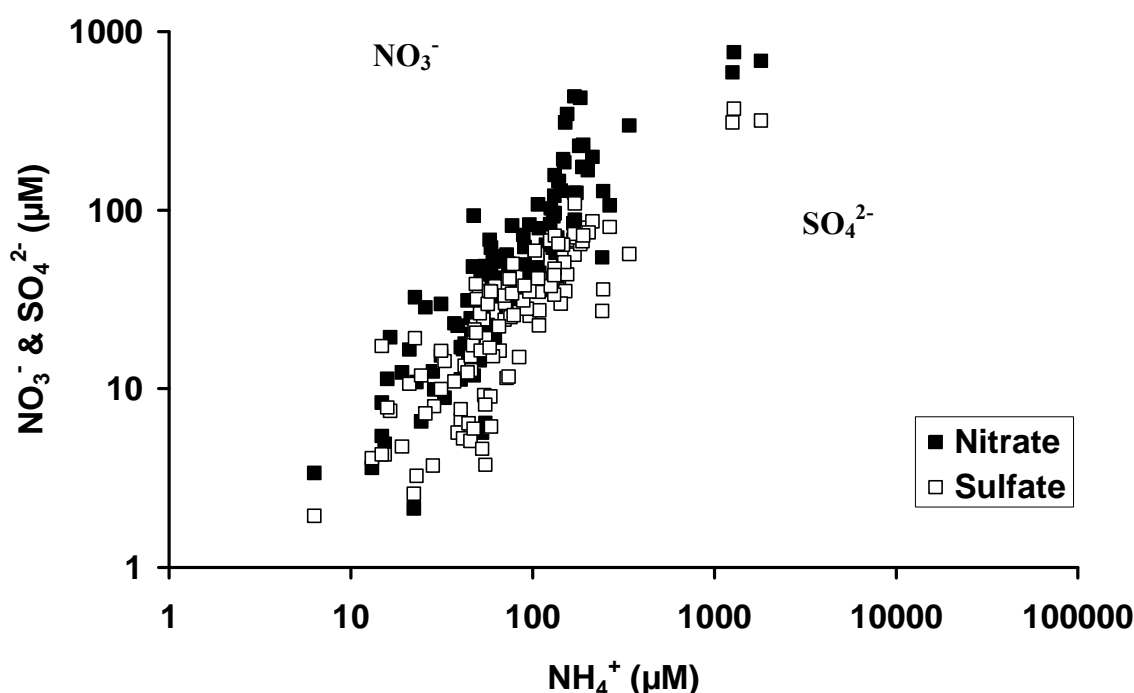


Figure 4-10 : Corrélations entre les concentrations (en μM) en nitrates et sulfates d'une part et ammonium d'autre part.

4.2.3.3.3 Sulfates

L'étude de la part non marine des sulfates (nss SO_4^{2-}) mesurés dans nos échantillons montre certes une influence océanique (cf. Figure 4-11) puisque les masses d'air en provenance de l'ouest et du nord-ouest présentent les valeurs les plus faibles. Cependant il est important de noter que quelle que soit la masse d'air une très large fraction des sulfates n'est pas d'origine marine. Cette part représente toujours plus de 50% des sulfates avec une valeur moyenne à 88% et une valeur médiane à 95% témoignant de la très grande ubiquité des composés soufrés d'origine anthropique dans l'atmosphère. De plus, la signature anthropique des masses d'air n'est pas aussi sensible pour le nss SO_4^{2-} que pour le NO_3^- parce que les émissions dues aux activités humaines ont sensiblement diminué depuis les années 1980 en Europe que ce soit par une réduction des émissions ou par une amélioration de la qualité des carburants. Cependant, l'important trafic marin est susceptible de créer des apports importants en SO_2 (et donc en nss SO_4^{2-}) pour des masses d'air sous influence océanique ce qui peut expliquer les résultats obtenus pour ces dernières. Des tendances assez similaires avaient été observées par Sellegri *et al.*, 2003(a) dans les aérosols échantillonnés au sommet du puy de

Dôme avec une part de nss SO_4^{2-} supérieure à 90% sauf dans le cas des masses d'air sous influence du bruit de fond troposphérique marin où cette part était comprise entre 20% et 40%. La sursaturation du S(IV) par rapport à son équilibre avec la phase gazeuse trouvée sur le même site par Sellegri *et al.*, 2003(c) ainsi que les phénomènes d'oxydation du S(IV) en S(VI) peuvent expliquer cette dominance des SO_4^{2-} d'origine non marine.

Bien que la production photochimique de S(VI) soit plus importante en été, aucun cycle saisonnier n'a pu être mis en évidence dans les nuages prélevés au puy de Dôme.

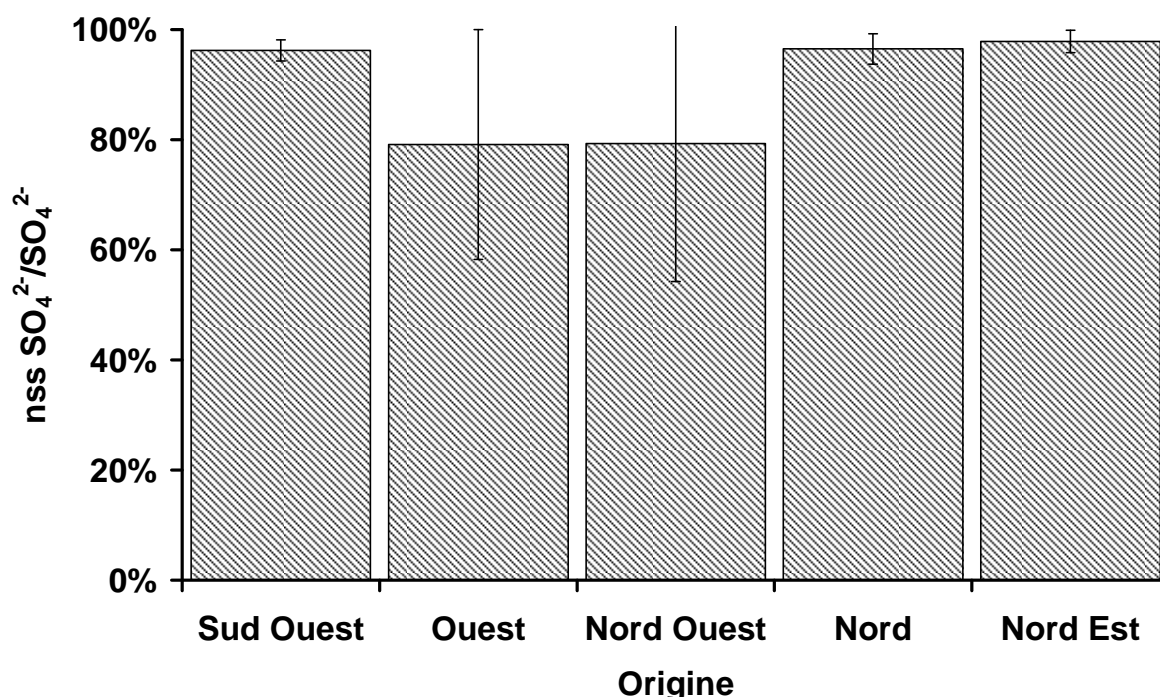


Figure 4-11 : Pourcentage des SO_4^{2-} d'origine non marine parmi les SO_4^{2-} totaux selon l'origine de la masse d'air.

4.2.3.3.4 Potassium

De la même manière le potassium d'origine non marine (nss K^+) mesuré montre l'influence océanique des masses d'air de l'ouest et du nord-ouest, mais aussi de fortes fractions d'autres origines (cf. Figure 4-12). La fraction non marine est toujours supérieure à 20% avec une valeur moyenne de 72% et une valeur médiane de 82%. Il faut tout de même remarquer que ces apports en K^+ non marins ne représentent pas des quantités aussi importantes que pour les SO_4^{2-} d'origine non marine. En effet la concentration en SO_4^{2-} dans nos échantillons représente en moyenne une quarantaine de μM , soit près de dix fois plus que le K^+ . Ce K^+ d'origine non marine ne représente donc en général que quelques μM qui

peuvent être imputables aux combustions de biomasse et aux carburants fossiles comme cela avait été observé sur les aérosols provenant de masses d'air sous influence anthropique sur le même site par Sellegri *et al.*, 2003(a).

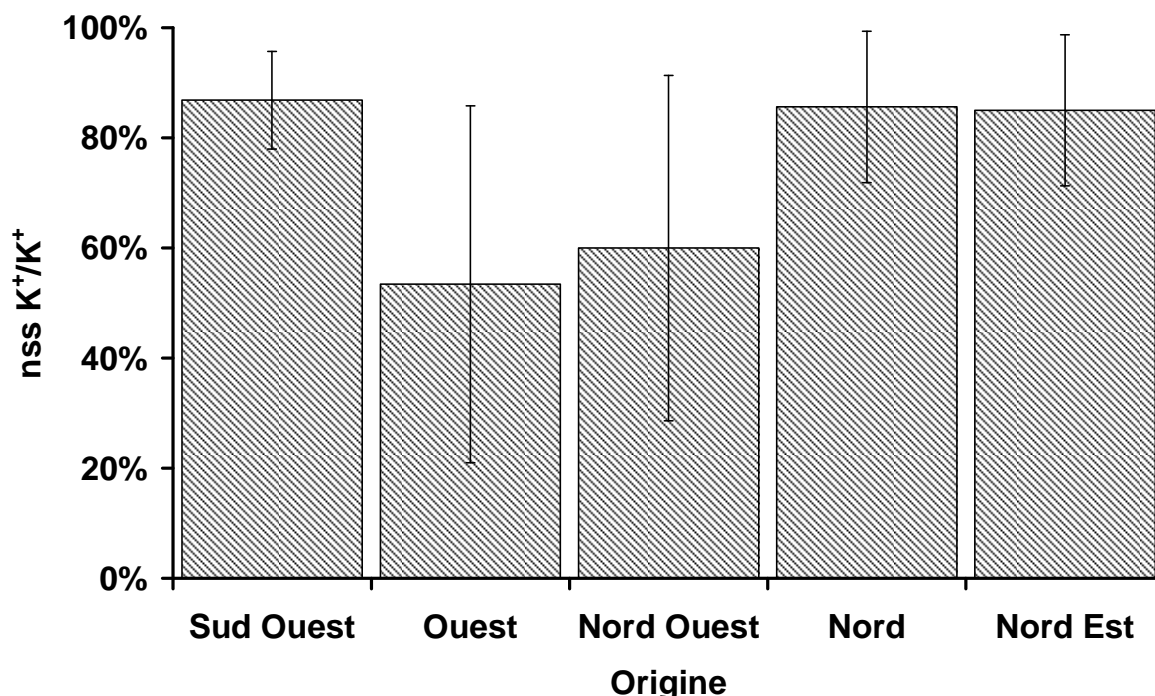


Figure 4-12 : Pourcentage des K⁺ d'origine non marine parmi les K⁺ totaux selon l'origine de la masse d'air.

4.2.4 Espèces organiques

4.2.4.1 Carbone organique total (TOC)

Le carbone organique total mesuré dans 97 échantillons présente une valeur moyenne de 4,4 mg de C.L⁻¹ avec une valeur médiane de 2,8 mg de C.L⁻¹ et un écart-type de 3,8 mg de C.L⁻¹ pour un intervalle de 0,3 à 18,4 mg de C.L⁻¹. Il ne présente pas de réelle tendance selon l'origine des masses d'air même si les valeurs des flux de nord-est sont généralement plus élevées. Cette observation complète celles de Marinoni *et al.*, 2004 qui observaient les valeurs les plus faibles de DOC pour les masses d'air sous influence anthropique. Cependant, parmi tous les composants chimiques du nuage, le carbone organique semble le plus lié aux composés azotés et il montre des corrélations correctes avec les ions NO₃⁻ et NH₄⁺ (cf. Figure 4-13 et le coefficient de Pearson entre le NO₃⁻ et le TOC de 0,91). Il faut rappeler que ces ions témoignent d'une influence anthropique non pas en terme de concentrations mais de proportions dans les ions mesurés. Au vu de la diversité des origines

possibles pour cette matière organique il est malaisé de proposer une explication. On remarquera que Sellegri *et al.*, 2003(b) ont mis en évidence que la présence de fortes concentrations en HNO_3 et NH_3 pouvait favoriser l'hygroscopicité et la solubilité des aérosols contenant une large fraction de matière organique hydrophobe.

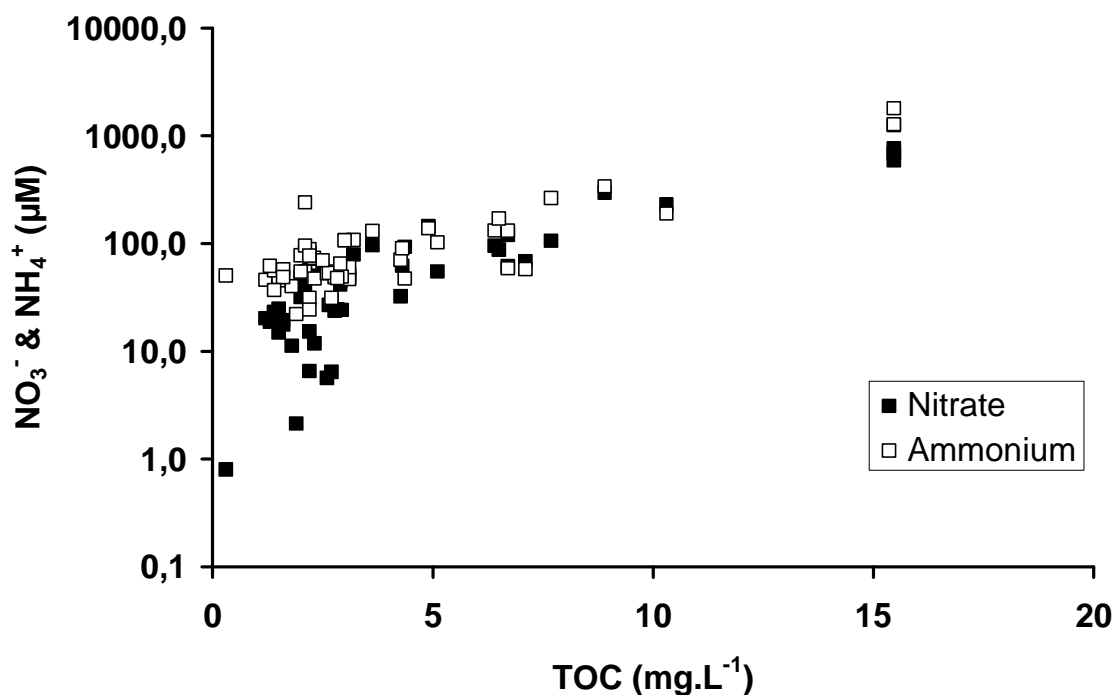


Figure 4-13 : Corrélation entre le NO_3^- et le NH_4^+ d'une part et le carbone organique total (TOC) d'autre part.

4.2.4.2 Acides carboxyliques

Les acides carboxyliques mesurés représentent pour les seuls formique, acétique, oxalique, succinique et malonique en moyenne 10,4% du carbone organique total avec une valeur médiane de 9,4% et un écart-type de 5,2% sur un intervalle de 0,3% à 26,3% avec un premier et troisième quartile respectivement de 6,4% et 12,8%. Ces valeurs sont en accord avec le reste de la littérature et montrent bien l'importance des acides carboxyliques dans la phase aqueuse du nuage. Ils représentent en effet une partie conséquente de la matière organique sous une forme très réactive vis-à-vis des espèces radicalaires présentes dans les gouttelettes de nuage.

	nb	Moyenne	Médiane	Ecart- type	Min	Max	1 ^{er} Quartile	3 ^{ème} Quartile
A. formique	120	9,8	6,0	11,2	0,3	69,8	3,6	11,2
A. acétique	119	7,6	4,7	8,4	0,3	47,8	3,0	9,7
A. oxalique	120	1,7	1,2	2,4	0,1	17,0	0,7	1,9
A. succinique	59	0,6	0,3	0,8	0,0	4,0	0,2	0,7
A. malonique	56	0,6	0,4	0,7	0,2	3,9	0,2	0,8
MSA	104	0,8	0,2	2,2	0,0	18,6	0,1	0,7

Tableau 4-3 : Concentrations (μM) obtenues pour les principaux acides carboxyliques.

Les acides formique, acétique, oxalique, succinique et malonique sont présents dans l'ensemble de nos échantillons (120) ou du moins dans l'ensemble des échantillons où ils ont été cherchés, par exemple l'acide succinique n'a été dosé que dans 59 échantillons et donc toujours trouvé (cf. Tableau 4-3 incorporant les échantillons présentés par Marinoni *et al.*, 2004). On a pu trouver de manière moins récurrente un certain nombre d'autres acides, à des concentrations généralement plus faibles ; parmi eux les acides lactique, glycolique, propionique, glyoxylique, pyruvique, glutarique, malique, tartrique et HMSA.

R ² Pearson	A. formique	A. acétique	A. oxalique	A. succiniqu.	A. maloniqu.	SO ₄ ²⁻	NO ₃ ⁻	NH ₄ ⁺
A. formique	1,00	0,85	0,76	0,83	0,77	0,69	0,59	0,72
A. acétique	0,85	1,00	0,61	0,67	0,59	0,57	0,52	0,61
A. oxalique	0,76	0,61	1,00	0,91	0,91	0,93	0,81	0,92
A. succiniqu.	0,83	0,67	0,91	1,00	0,97	0,90	0,87	0,83
A. maloniqu.	0,77	0,59	0,91	0,97	1,00	0,89	0,90	0,82
SO ₄ ²⁻	0,69	0,57	0,93	0,90	0,89	1,00	0,86	0,94
NO ₃ ⁻	0,59	0,52	0,81	0,87	0,90	0,86	1,00	0,85
NH ₄ ⁺	0,72	0,61	0,92	0,83	0,82	0,94	0,85	1,00

Tableau 4-4 : Coefficients de régression linéaire de Pearson pour les acides carboxyliques et quelques ions d'origine anthropique (SO₄²⁻, NO₃⁻ et NH₄⁺).

Mis à part le MSA, les acides carboxyliques sont relativement bien corrélés entre eux (cf. Tableau 4-4). Les monocarboxyliques (formique et acétique) ainsi que les dicarboxyliques (oxalique, succinique, malonique) sont encore mieux corrélés entre eux même, ce qui rejoint pour les acides dicarboxyliques les mesures effectuées par Legrand *et al.*, 2007 dans les aérosols. Les acides dicarboxyliques sont les plus corrélés aux éléments anthropiques (SO_4^{2-} et NO_3^-) et ceci de manière d'autant plus importante que le nombre d'atomes de carbone est important. Ceci suggère un effet source dominant pour les acides succinique et malonique alors que l'acide oxalique semble être influencé par des réactions secondaires affectant ses concentrations. Ces mêmes corrélations sont beaucoup plus faibles pour les acides monocarboxyliques.

On n'observe pas de réelle tendance en ce qui concerne l'influence de l'origine des masses d'air sur les concentrations en acides carboxyliques. Au cours de l'année les valeurs moyennes observées ne sont pas très différentes même si les valeurs les plus importantes sont observées au printemps (avril). A ce stade il est difficile de distinguer les sources de ces acides carboxyliques. Il est tout de même intéressant de noter que Sellegri *et al.*, 2003(c) avaient mis en évidence une source non particulière d'acide oxalique dans la phase aqueuse du nuage, source qui pourrait être attribuée à une production secondaire en phase aqueuse.

4.2.4.3 Formaldéhyde

Le formaldéhyde mesuré dans 74 échantillons présente une valeur moyenne de $87 \mu\text{g.L}^{-1}$ avec une valeur médiane de $56 \mu\text{g.L}^{-1}$ et un écart-type de $88 \mu\text{g.L}^{-1}$ sur un intervalle de $4 \mu\text{g.L}^{-1}$ à $428 \mu\text{g.L}^{-1}$. Le formaldéhyde montre une grande hétérogénéité dont témoigne la différence entre les valeurs moyenne et médiane ainsi que les valeurs du premier et du troisième quartile qui sont respectivement de $27 \mu\text{g.L}^{-1}$ et de $115 \mu\text{g.L}^{-1}$. Le formaldéhyde représente à lui seul entre 0,0% et 5,0% du carbone organique total avec une moyenne de 1,0%.

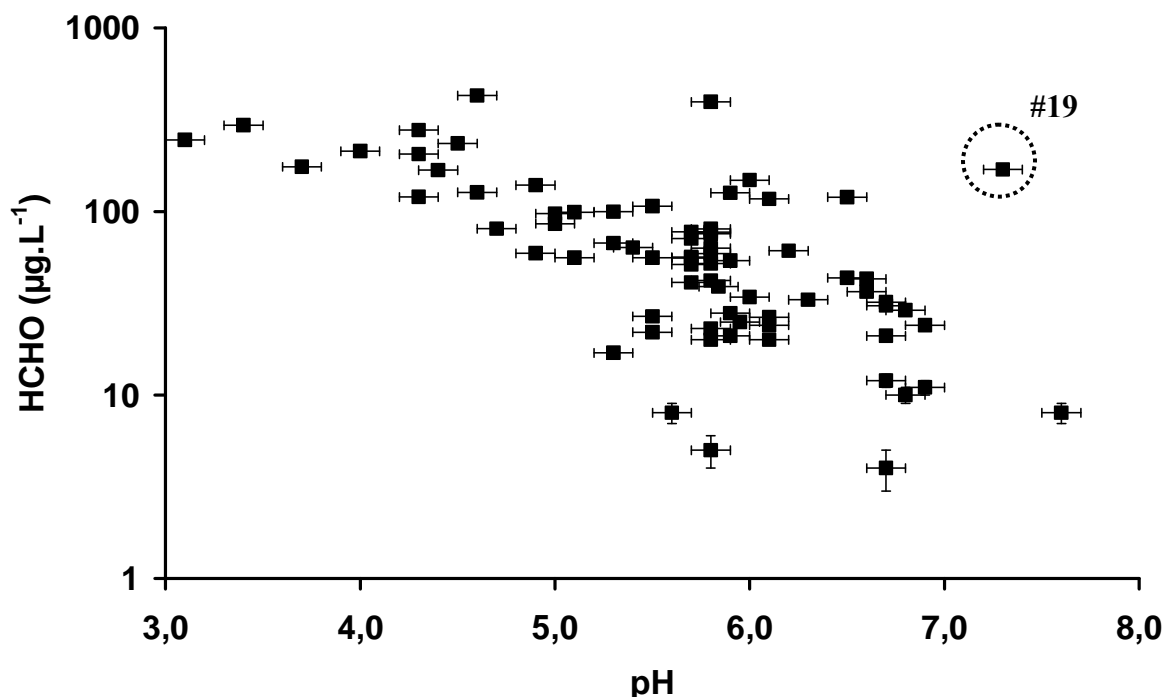


Figure 4-14 : Corrélation entre le pH et la concentration en formaldéhyde mesurés dans nos échantillons.

Le formaldéhyde présente dans nos échantillons une corrélation avec le pH (cf. Figure 4-14). Des concentrations plus importantes dans les masses d'air sous influence anthropique du nord-est et sous influence mixte anthropique et continentale du sud-ouest ont été mesurées (cf. Figure 4-15). Notre unique évènement et échantillon saharien (#19) présente aussi de fortes concentrations en formaldéhyde (cf. Figure 4-14) sur lesquelles il est difficile de se prononcer en l'absence de données ioniques ou de carbone organique. Au puy de Dôme, les aérosols d'origine saharienne ne présentent pas de fortes concentrations en carbone organique (Sellegrì *et al.*, 2003(a)) mais leur surface est susceptible de favoriser la condensation d'espèces gazeuses (HNO_3) ayant pu influencer ensuite le transfert de H_2CO voir même directement sa polymérisation à la surface de ces aérosols.

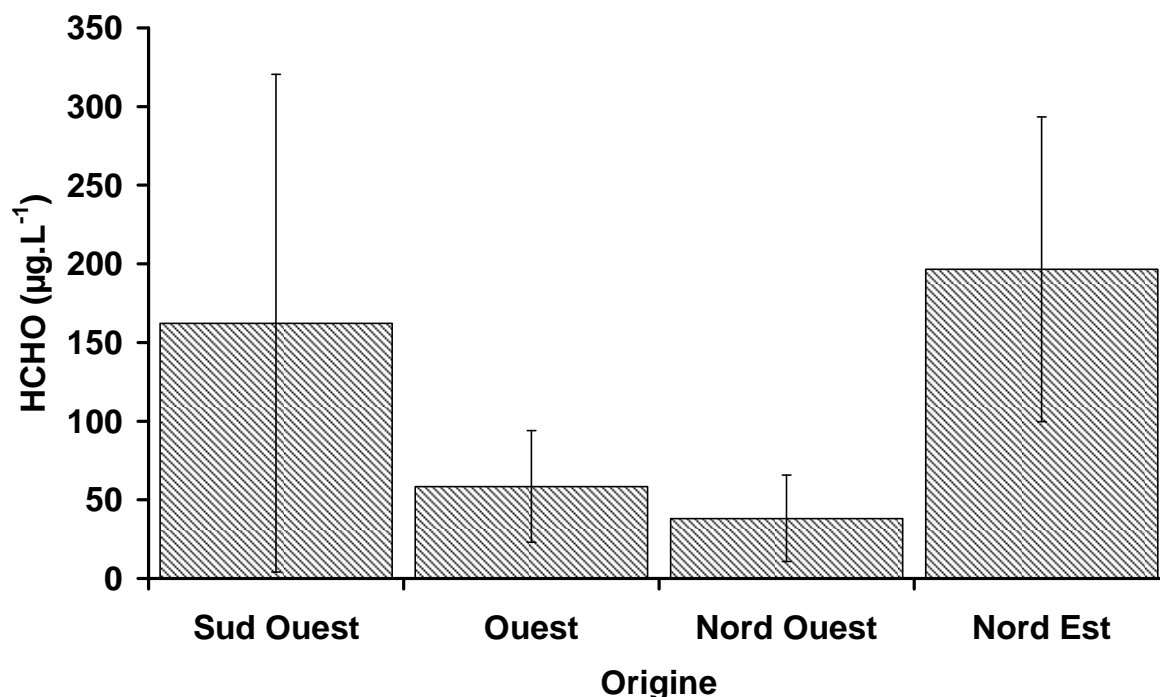


Figure 4-15 : Quantité moyenne de formaldéhyde selon l'origine de la masse d'air (Nord non représenté car ne disposant pas de donnée).

4.2.5 Conclusions sur la chimie de la phase aqueuse des nuages

Cette étude préliminaire, en accord avec les études précédemment conduites au puy de Dôme, nous aura montré l'importance qu'occupe l'origine de la masse d'air dans sa caractérisation chimique. Les différentes influences subies par la phase aqueuse des nuages prélevée au puy de Dôme affectent considérablement sa chimie et sont susceptibles d'affecter sa réactivité. Par exemple les pH plus bas des masses d'air sous influence anthropique sont susceptibles d'influencer la réactivité des espèces ioniques (notamment des acides carboxyliques en modifiant leur forme dominante en fonction de leur pKa). Les fortes proportions de NO_3^- contenues dans ces masses d'air peuvent modifier les réactions photochimiques mises en jeux en phase aqueuse (rôle plus important de la photolyse des espèces azotées). Ce type de modification est souvent étudiée dans les divers scénarios abordés par les modèles (Herrmann *et al.*, 2000 ; Leriche *et al.*, 2001 ; Herrmann *et al.*, 2005) ce qui montre bien leur importance potentielle pour la réactivité de la phase aqueuse des nuages. La mise en évidence de la présence de microorganismes dans l'eau des nuages prélevée au sommet du puy de Dôme pose maintenant la question de l'interaction qui peut exister entre la chimie de cette phase aqueuse et les communautés de microorganismes qui y sont présentes.

4.2.6 Interactions entre chimie et microorganismes

Les résultats présentés ci-après ont été réalisés en commun avec Pierre Amato (SEESIB sous la responsabilité de Anne-Marie Delort et Martine Sancelme) et ont fait l'objet d'une publication commune (Amato *et al.*, 2007(b)) donnée en annexe. Je présente ici un résumé des résultats les plus importants que nous avons obtenus dans ce domaine.

La phase aqueuse des nuages prélevée au sommet du puy de Dôme présente des concentrations moyennes en bactéries de $8,1 \cdot 10^4$ cellules.mL⁻¹ et en champignons de $5,9 \cdot 10^3$ cellules.mL⁻¹. Ces mesures sont un simple comptage et concernent toutes les cellules microbiennes vivantes ou mortes présentes dans l'eau du nuage. Parmi ceux-ci moins de 1% des bactéries sont cultivables¹ à 15°C et 27°C et plus de 10% des champignons le sont dans les mêmes conditions. Ces résultats de mise en culture peuvent sembler faibles mais sont semblables à ceux que l'on peut obtenir dans d'autres compartiments de l'environnement, la composition du substrat de culture ayant un effet sélectif sur les organismes viables. Les mesures d'ATP² ont montré en moyenne des concentrations de 0,4 pmol.mL⁻¹ dans l'eau des nuages. Dans la mesure où il existe un ratio moyen ATP/bactérie on constate que la quantité d'ATP mesurée correspond assez bien au nombre total de cellules bactériennes. Ceci indique qu'une majorité des organismes sont viables mais non cultivables dans les conditions choisies. Ces résultats démontrent également qu'une majorité d'organismes sont susceptibles d'être actifs en tant que biocatalyseurs dans l'eau des nuages. Une conclusion similaire, bien que basée sur une technique analytique différente mettant en jeu l'incorporation d'une molécule fluorescente servant de marqueur dans la cellule, a été formulée par Hill *et al.*, 2007.

De manière générale on observe un accroissement du nombre d'organismes (bactéries et champignons) cultivables pendant l'été et l'automne (cf. Figure 4-16). Ceci peut traduire un effet sélectif de la saison sur les bactéries présentes dans la phase aqueuse des nuages ou un effet source puisque de nombreuses bactéries identifiées dans la phase aqueuse du nuage au puy de Dôme sont des souches phytopathogènes pour qui l'atmosphère constitue un mode de dissémination privilégié (Amato *et al.*, 2007(a)). En ce qui concerne les champignons et levures, ils sont connus pour émettre des spores de façon privilégiée pendant les périodes les plus chaudes, le pourcentage de cellules cultivables ne variant pas au cours de l'année.

¹ Capables de se développer dans nos conditions de culture.

² Adénosine Tri Phosphate : molécule servant de carburant aux cellules de tous les organismes vivants.

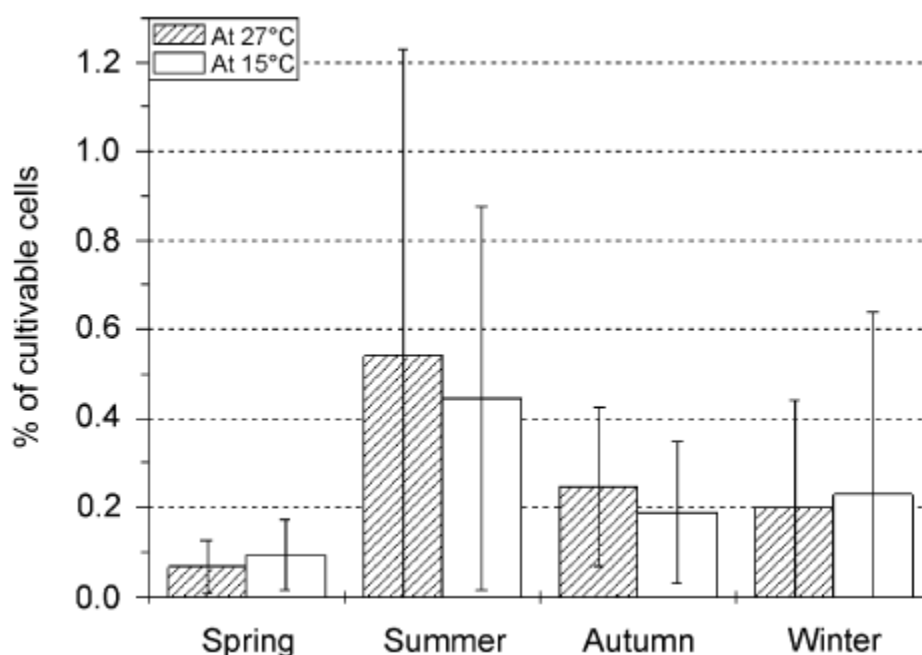


Figure 4-16 : Pourcentage de cellules bactériennes cultivables (à 15°C et 27°C) en fonction de la saison (d'après Amato *et al.*, 2007(b)).

Enfin le nombre de cellules ainsi que le nombre d'organismes cultivables est plus important avec l'augmentation de la composante marine (quantité de Na^+ en solution) de l'eau des nuages prélevée au puy de Dôme (cf. Figure 4-17 et Figure 4-18). Les océans semblent donc être des sources majeures de microorganismes (bactéries et cellules fongiques) dans les nuages. Les masses d'air sous influence océanique présentent aussi de meilleures conditions de viabilité que ce soit par des pH proches de la neutralité ou par l'hygroscopicité des aérosols d'origine marine à même de mieux protéger les microorganismes de la dessiccation. D'un autre côté les masses d'air sous influence anthropique présentent des tendances inverses, les faibles pH semblant être un facteur limitant les capacités de développement des microorganismes dans la phase aqueuse des nuages (cf. Figure 4-19 et Amato *et al.*, 2005 ; Fuzzi *et al.*, 1997).

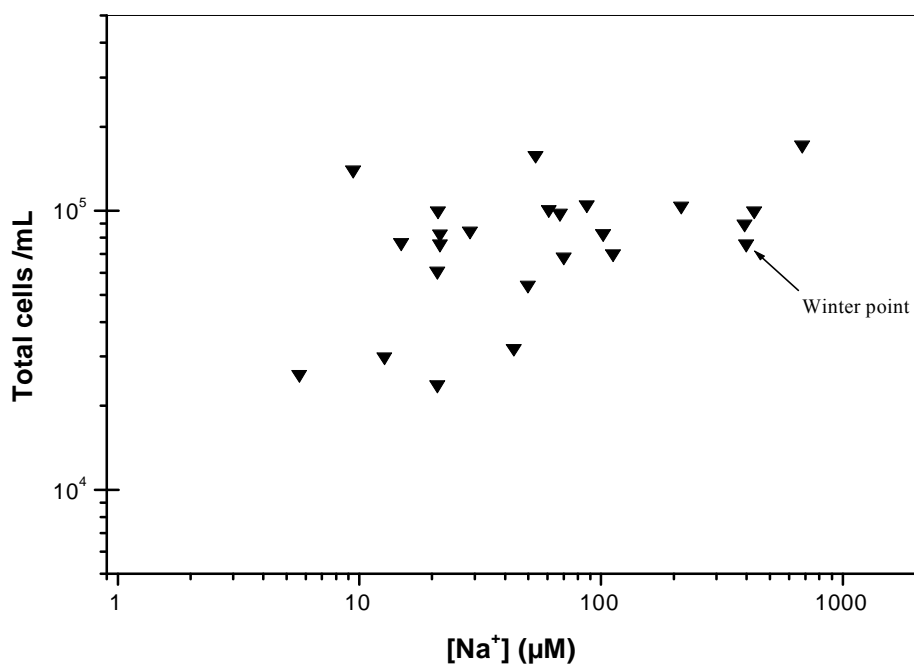


Figure 4-17 : Nombre de bactéries (cellules.mL⁻¹) en fonction des concentrations en sodium (μM) (d'après Amato *et al.*, 2007(b)).

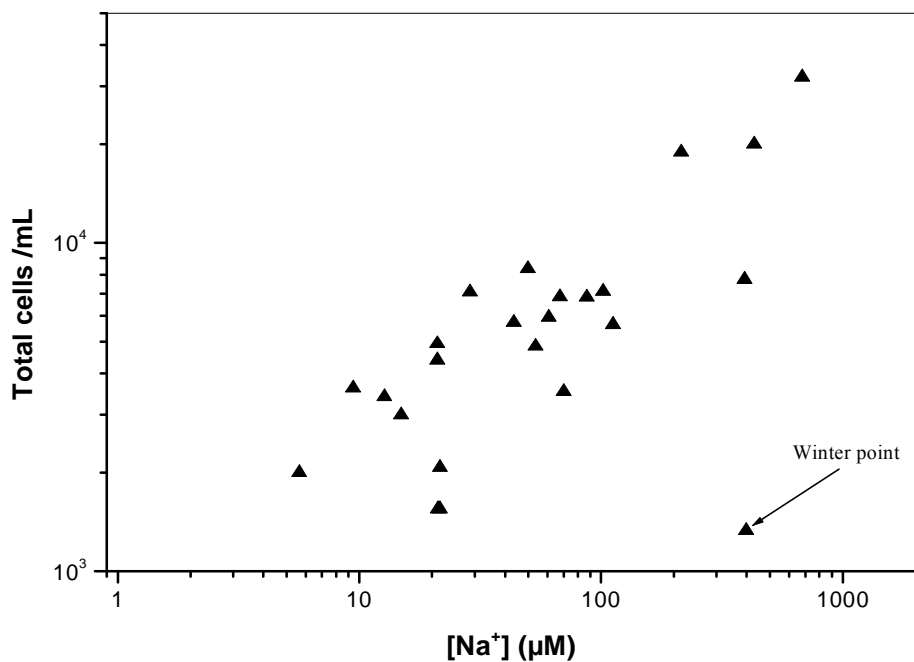


Figure 4-18 : Nombre de champignons (cellules.mL⁻¹) en fonction des concentrations en sodium (μM) (d'après Amato *et al.*, 2007(b)).

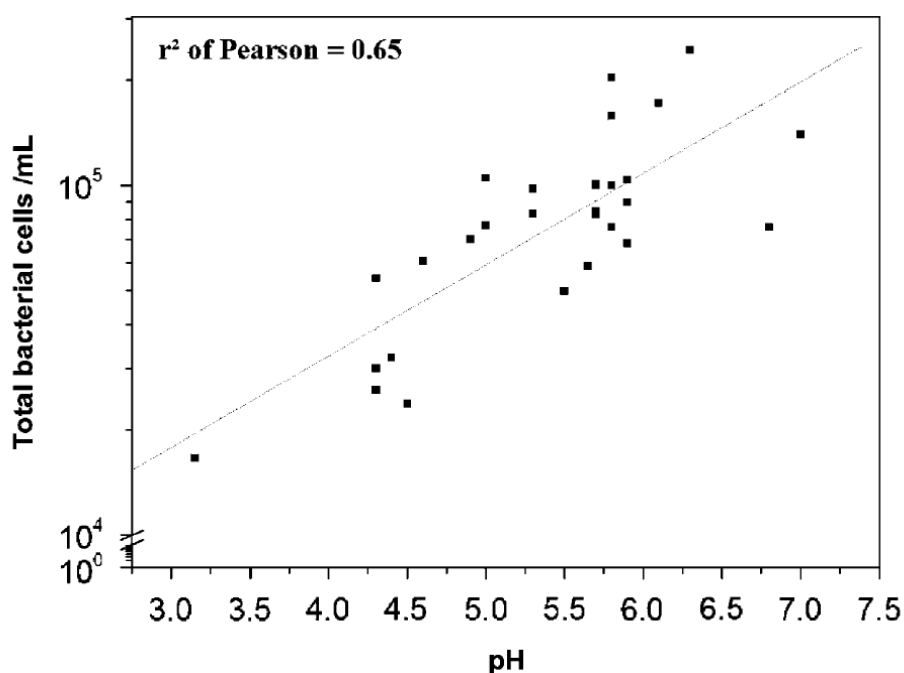


Figure 4-19 : Nombre de bactéries (cellules.mL-1) en fonction du pH (d'après Amato *et al.*, 2007(b))

De fait on constate que le nombre de microorganismes des nuages est lié à la chimie de la phase aqueuse. Ceci peut être dû notamment à des effets de source mais aussi à l'influence négative due à l'anthropisation de certaines masses d'air. Ce résultat n'est peut être pas sans conséquence sur la chimie du nuage si l'impact des microorganismes sur la composition organique de la phase aqueuse des nuages était avéré. En effet, une diminution du nombre de microorganismes présents dans la phase aqueuse du nuage, même si elle ne préjuge pas ni de leur diversité ni de leur activité, est susceptible de diminuer leurs biodégradations.

4.3 Les sources de radicaux HO•

Nous nous sommes concentrés uniquement sur le fer et le H₂O₂ comme sources photochimiques de radicaux hydroxyle potentielles. Ces deux composés font partie des espèces les plus citées comme ayant un impact fort dans le bilan des HO•. La bibliographie sur le rôle du fer et du peroxyde d'hydrogène dans les nuages est assez abondante et, malgré des résultats parfois contradictoires, nous laisse une idée assez précise de la manière selon laquelle nous pouvons interpréter nos mesures de terrain. Ainsi nous aborderons successivement pour le fer et pour le H₂O₂ les résultats obtenus *in situ* avant de compléter nos observations par des expériences conduites en laboratoire permettant de vérifier les phénomènes mis en évidence.

4.3.1 Le fer

Les résultats présentés ci-après ont fait l'objet d'une publication (Parazols *et al.*, 2006 ; Parazols *et al.*, 2007) qui est donnée dans les annexes de cette thèse.

4.3.1.1 Résultats de terrain

4.3.1.1.1 Le fer dans les nuages du puy de Dôme

Les concentrations en Fe(Total) mesurées sur 151 échantillons prélevés de 34 événements nuageux présentent des valeurs moyennes de 1,2 µM avec une médiane de 0,6 µM et un écart-type de 1,7 µM pour un intervalle de valeurs allant de 0,1 µM à 9,1 µM. Ces valeurs sont en accord avec la plupart des valeurs trouvées généralement dans les gouttelettes de nuage (cf. Tableau 2-7). Le fer ne présente pas de climatologie nette même si les valeurs les plus importantes sont trouvées généralement pour les masses d'air sous influence anthropique. Ceci peut s'expliquer par des sources anthropiques plus importantes et une solubilité accrue que ce soit par les pH plus faibles de ce type de masse d'air ou par la nature même des aérosols d'origine anthropique dans lesquels le fer est généralement plus aisément solubilisé.

Le fer semble relativement bien corrélé à la conductivité (cf. Figure 4-20), ceci témoigne d'une bonne corrélation avec les autres ions majeurs présents en solution, le fer n'influençant que de manière infime la conductivité du milieu. Les espèces influençant le plus la conductivité dans nos prélèvements sont le Na⁺, NO₃⁻, SO₄²⁻ et NH₄⁺ ce qui ne permet pas

de mettre en évidence une source commune simple étant donné les origines diverses de ces espèces.

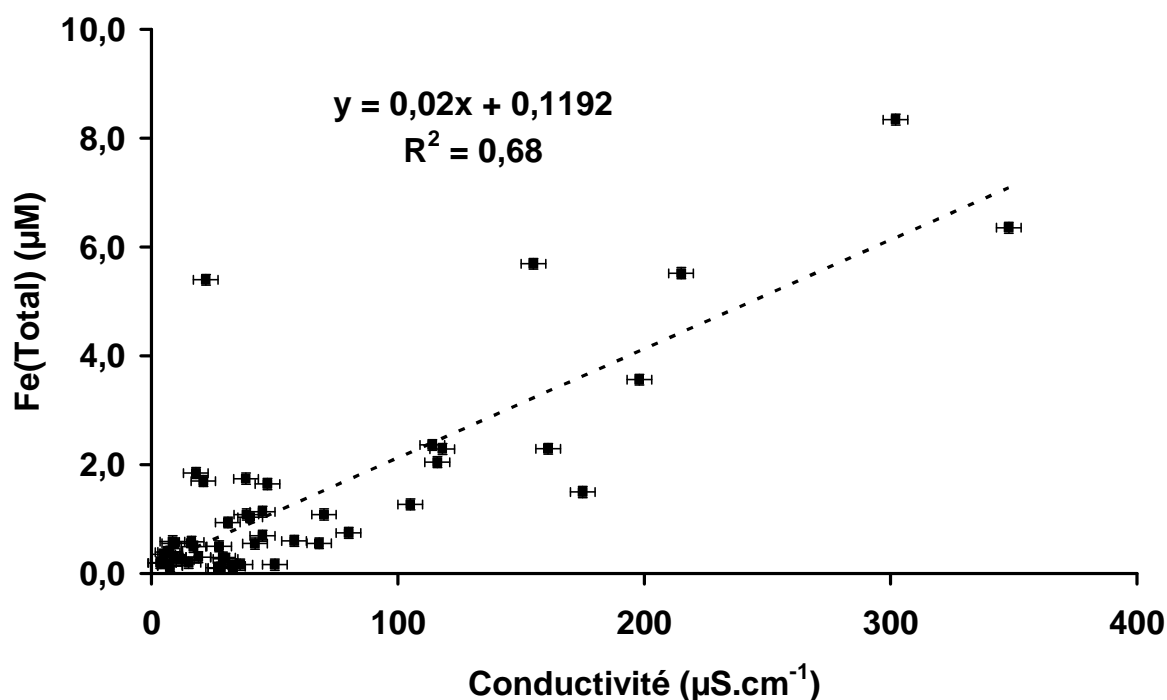


Figure 4-20 : Concentrations en Fe(Total) en fonction de la conductivité.

Le fer semble présenter des concentrations toujours importantes aux pH les plus faibles et des concentrations globalement plus faibles aux pH les plus élevés (cf. Figure 4-21). Il y a toutefois deux exceptions majeures à cette observation. L'une est un événement de type saharien (#19) (rarement associé à un événement nuageux ce qui explique sa rareté), dont la minéralogie peut sûrement expliquer ses concentrations en fer plutôt élevées (5,5 µM) pour son pH lui-même assez atypique (7,3). L'autre (#14) est un événement qui malgré son pH moyen pour nos nuages présentait des concentrations très élevées en ions représentatifs de sources anthropiques même si ces dernières n'avaient que peu influencé le pH. En effet l'événement #14 contient une des concentrations les plus fortes en TOC observées dans les nuages du pdD (15,5 mg.L⁻¹ de C pour #14) et des concentrations en acides carboxyliques près de 10 fois supérieures aux moyennes habituelles (2,8 mg.L⁻¹ en moyenne) malgré un contenu en eau liquide très important (LWC = 0,43 g.m⁻³). Ces fortes concentrations impliquent sûrement la présence d'un grand nombre de composés organiques aptes à complexer le fer particulaire et à en augmenter la solubilité.

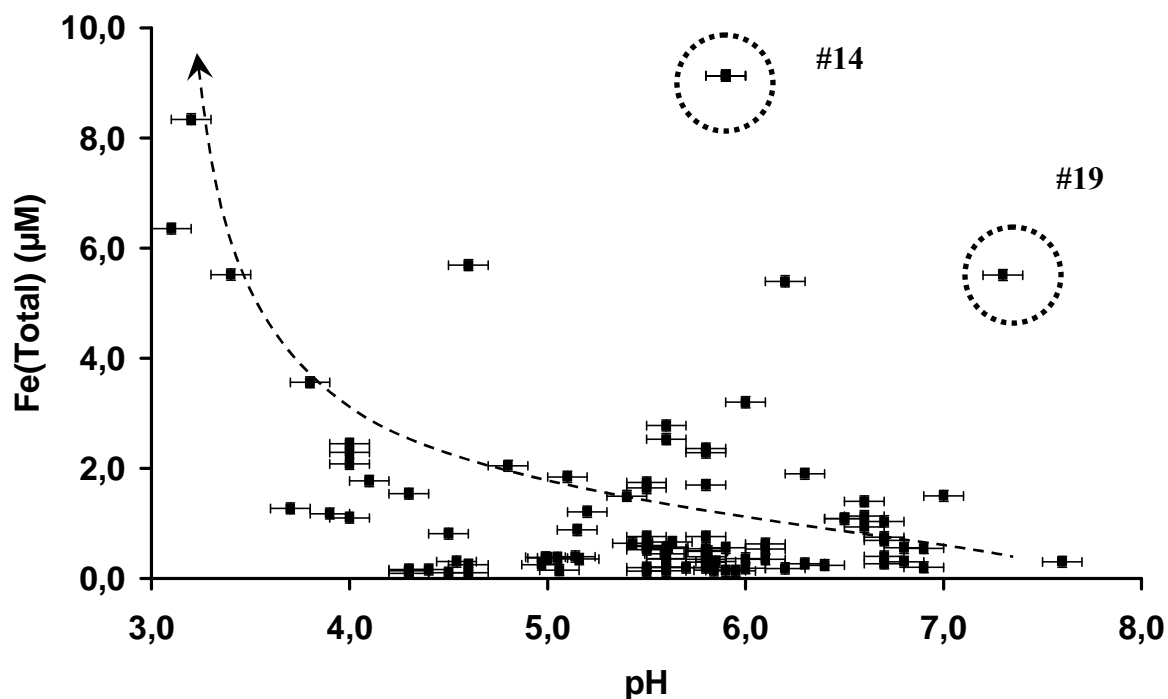


Figure 4-21 : Concentrations en Fe(Total) en fonction du pH.

De la même manière les concentrations en fer et en carbone organique semblent suivre une tendance assez similaire (cf. Figure 4-22 et Figure 4-23). Ceci traduit certainement une interaction entre la matière organique et le fer solubilisé dans les nuages prélevés au cours de cette étude.

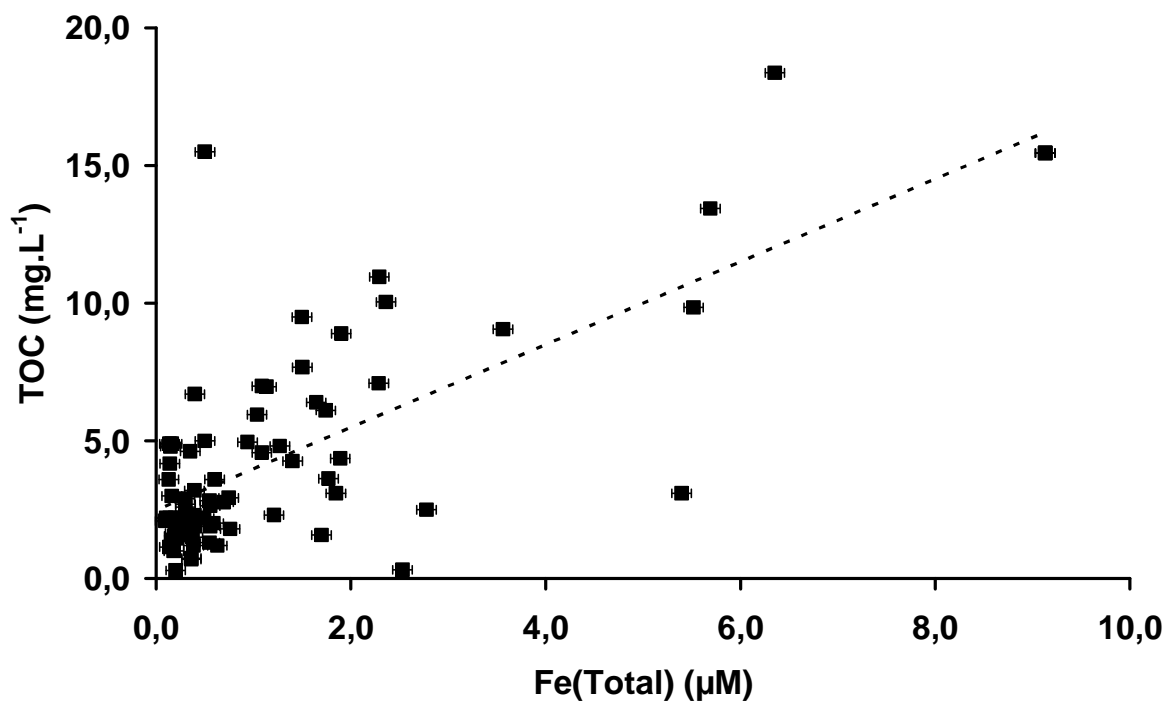


Figure 4-22 : Concentrations en carbone organique total (TOC) en fonction de celles en Fe(Total).

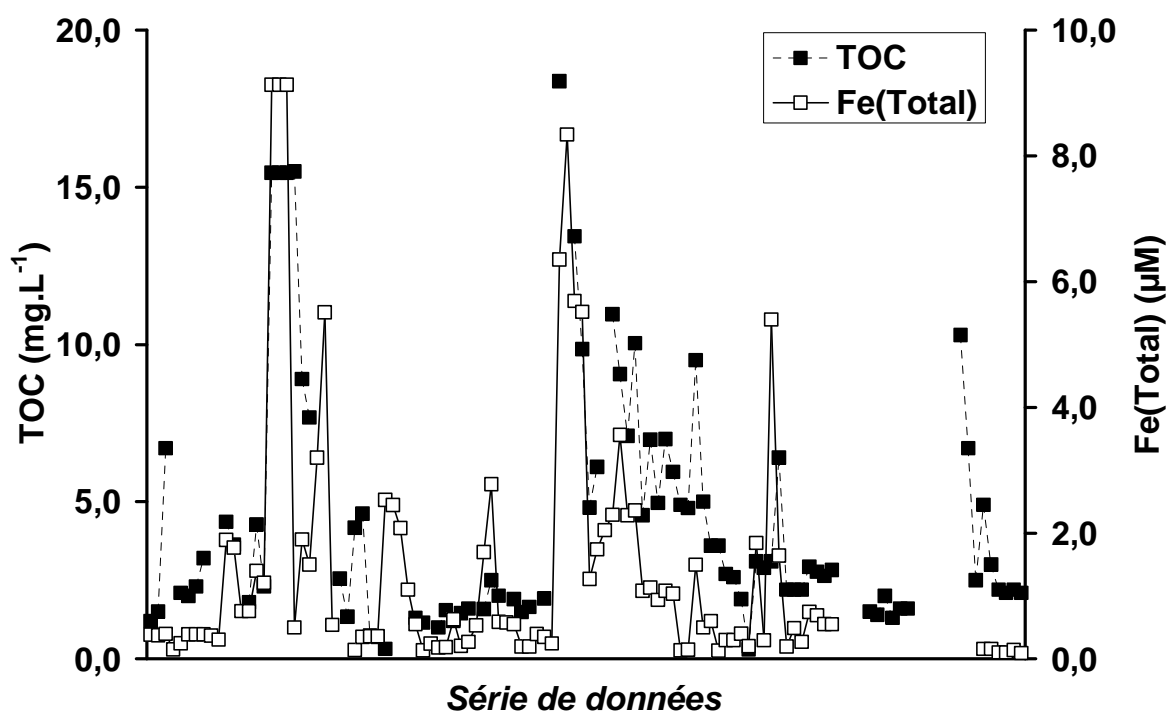


Figure 4-23 : Coévolution des concentrations en TOC et en Fe(Total).

4.3.1.1.2 *Les métaux de transition dans les nuages du puy de Dôme*

Les métaux de transition, autres que le fer, n'ont été mesurés que dans un seul événement nuageux (#40) sous influence anthropique. Nous avons mis en évidence des concentrations moyennes en Cu(II) et en Zn(II) (généralement issus de sources anthropiques) plus importantes que celles de fer (respectivement 0,31 μM et 0,50 μM contre 0,13 μM pour le Fe(Total)). Ceci peut s'expliquer par la composante anthropique de cet événement nuageux qui ne présentait cependant pas des concentrations très importantes en ions et en métaux. En effet malgré un pH moyen de 4,4 caractéristique des événements sous influence anthropique on observe une conductivité moyenne assez faible de 34 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ et des concentrations en fer se situant dans les plus faibles mesurées.

4.3.1.1.3 *Photochimie du fer*

Afin de détecter d'éventuels cycles photochimiques du fer dans la phase aqueuse des nuages prélevée au pdD, nous nous sommes intéressés à la spéciation du fer dans nos échantillons et plus précisément au rapport Fe(II)/Fe(Total). Ce rapport est en moyenne de 76% avec une médiane elle aussi de 76% et un écart-type de 26% avec un intervalle compris entre 7% et 112% (ceci est dû aux incertitudes sur les dosages notamment à basses concentrations $< 1\mu\text{M}$). La similarité entre la moyenne et la médiane ainsi que la faible dispersion du premier et troisième quartile (respectivement 62% et 98%) montrent une faible variabilité de ce rapport confirmée par la Figure 4-24 ainsi qu'une prépondérance du fer sous sa forme réduite en accord avec une majorité de résultats de la littérature (cf. 2.2.4).

De plus la faible variabilité de ce rapport n'a pu être corrélée avec aucun autre paramètre climatologique ou chimique. Ainsi ce rapport reste semblable quelque soit l'origine de la masse d'air, l'heure de la journée ou encore les concentrations en SO_4^{2-} ou en H_2O_2 .

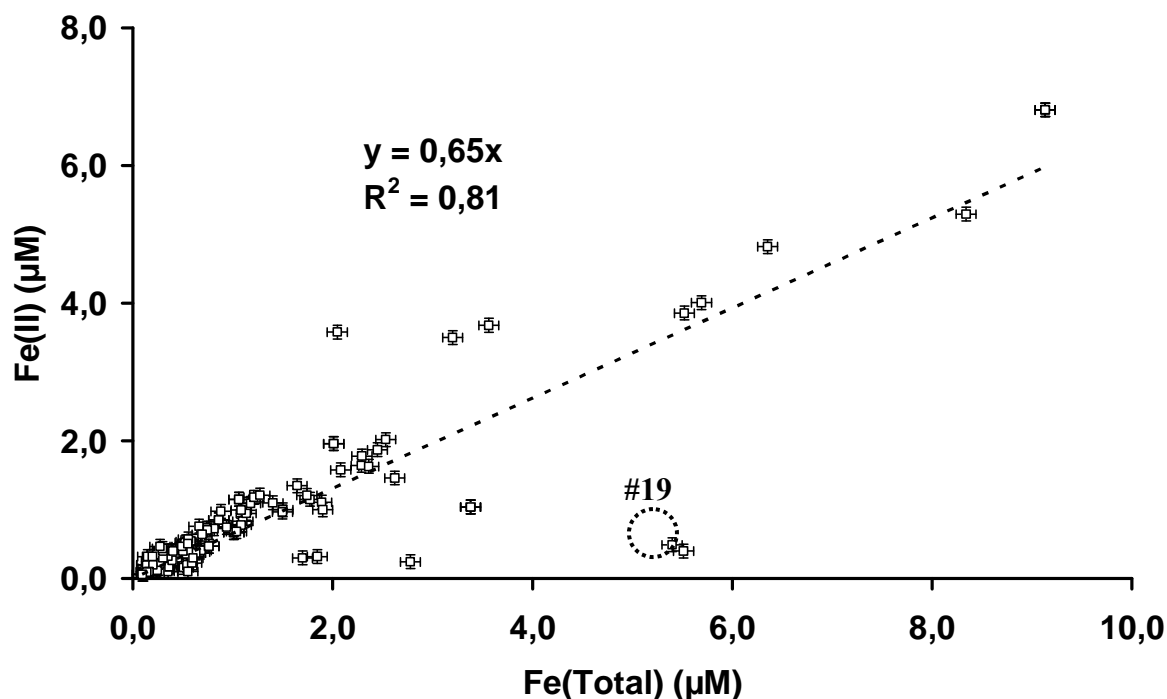


Figure 4-24 : Concentrations en Fe(II) en fonction des concentrations en Fe(Total).

Il est possible que les cycles photochimiques du fer soient trop rapides pour pouvoir être mis en évidence par nos prélèvements et que le rapport que nous mesurons corresponde à un équilibre stationnaire dans la phase aqueuse de nos nuages (après prélèvement). Cependant la dominance du Fe(II) ne devrait pas être aussi nette puisque ce dernier devrait s'oxyder pendant le temps d'échantillonnage durant lequel l'échantillon est privé de source lumineuse. On peut donc supposer la présence, dans les gouttelettes de nuage, d'éléments stabilisants le fer dans son état de valence aussi bien en terme de réduction photochimique que d'oxydation.

L'étude du diagramme de Pourbaix de spéciation du fer en solution aqueuse pour nos échantillons de nuage nous apporte des informations très précieuses (cf. Figure 4-25). En effet on peut observer que dans la gamme de potentiel d'oxydoréduction (majoré de 240 mV par rapport à la mesure de notre électrode ce qui correspond à la différence de potentiel entre les électrodes calomel et hydrogène) et de pH du nuage le fer devrait se trouver sous deux formes : le Fe(II) soluble et le Fe(III) qui est insoluble. On voit que d'après nos valeurs mesurées de pH et de potentiel rédox, une grande majorité des points sont présents dans la zone comprise entre les seuils de solubilité de 0,1 μM et 1 pM. Cependant les concentrations mesurées dans nos nuages (de 0,1 μM à 9,1 μM) sont bien supérieures à celles que l'on peut attendre théoriquement dans un tel milieu. Ceci semble confirmer la présence d'espèces

stabilisant le fer en solution sous ses formes réduites et/ou oxydées qui seraient incluses dans la part de fer que nous mesurons. En effet, notre méthode de dosage par spectrophotométrie utilise un puissant complexant du Fe(II) susceptible d'interférer avec les complexes du fer avec la matière organique. Cette constatation peut également expliquer que la part de fer réellement disponible pour la photochimie soit très faible. En effet, plus le fer sera complexé à la matière organique macromoléculaire et moins il sera photoréactif. Ceci est tout à fait en accord avec la faible variabilité du rapport Fe(II)/Fe(III) que nous avons trouvé dans nos mesures de terrain.

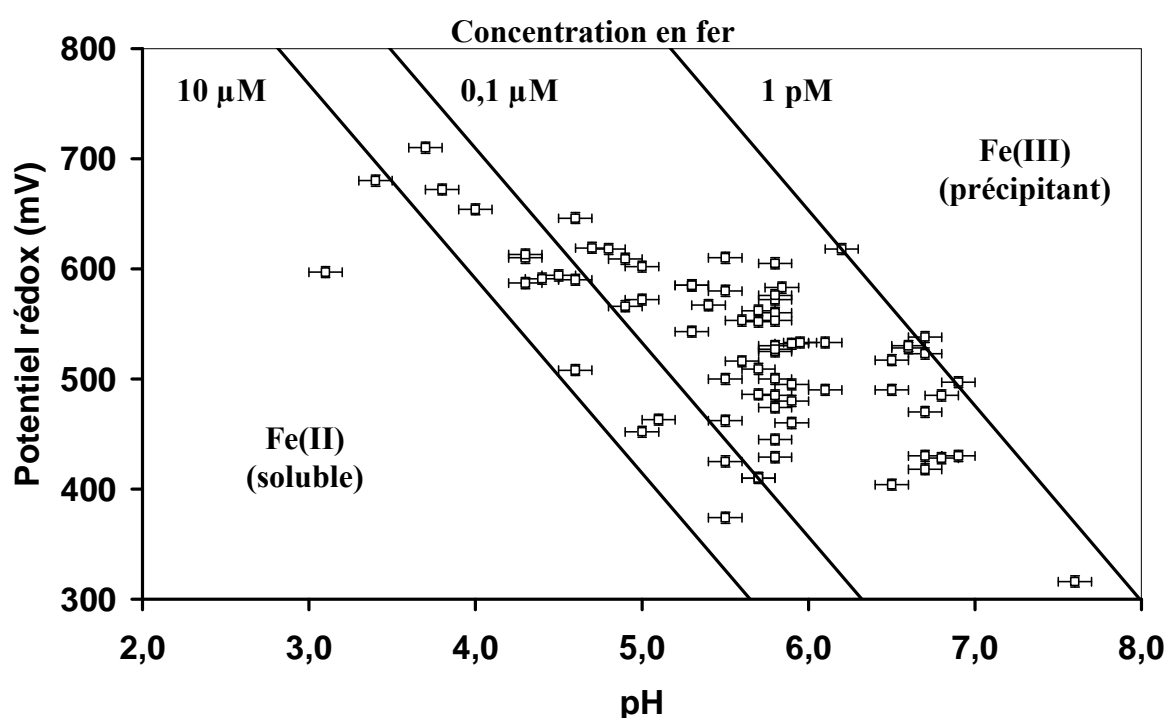


Figure 4-25 : Diagramme de Pourbaix du fer pour les échantillons de nuages prélevés au pdD.

4.3.1.2 Irradiations en laboratoire

Afin de pouvoir étudier plus précisément l'évolution de ce rapport et confirmer nos résultats obtenus sur le terrain nous avons pratiqué des irradiations en laboratoire sur 10 échantillons de nuage (prélevés spécifiquement pour conduire ces irradiations). Ceci va nous permettre de suivre l'évolution de la spéciation du fer sous l'effet d'une irradiation lumineuse. Toutes ces expériences ont montré de faibles variations du rapport Fe(II)/Fe(Total) non corrélées à l'irradiation. Ces résultats de laboratoire confirment la tendance observée au cours de nos échantillonnages sur la très faible réactivité photochimique du fer dans l'eau des nuages prélevée au puy de Dôme. Par contre les expériences similaires pratiquées sur le

modèle des expériences de Zuo, 1995 avec de l'eau ultra pure dopée avec du Fe(III) et de l'acide oxalique ont montré sous irradiation dans les mêmes conditions une importante réduction photochimique du fer liée à une disparition de l'acide oxalique et une production de H_2O_2 .

4.3.1.3 Conclusions sur la chimie du fer

La stabilité du rapport Fe(II)/Fe(Total) au cours des prélèvements combinée aux concentrations élevées observées, si l'on prend en considération le diagramme de Pourbaix du fer en milieu aqueux, nous amène à penser qu'une interaction avec des composés non identifiés stabilise le fer dans les gouttelettes de nuage sous une forme peu réactive. Ces résultats sont confirmés par les expériences d'irradiation en laboratoire qui montrent nettement que les réactions photochimiques impliquées dans la phase aqueuse du nuage ne sont pas assimilables aux réactions d'une solution modèle de type fer-oxalate. Au regard des corrélations observées entre le fer et la matière organique dans nos échantillons, on peut supposer qu'une interaction avec des composés organiques macromoléculaires diminuant fortement la réactivité photochimique est à mettre en cause. Cette interaction peut prendre la forme d'agrégats colloïdaux ou de complexes macromoléculaires entre le fer et des macromolécules organiques de type substances humiques.

On peut se demander ce qui différencie les eaux superficielles continentales où des cycles photochimiques du fer ont été caractérisés de la phase aqueuse des nuages où ces cycles sont si peu évidents. Tout d'abord les potentiels rédox des eaux superficielles continentales sont généralement inférieurs de près de 100 mV à ceux observés dans les nuages pour des pH relativement similaires. Ceci a pour conséquence de permettre selon le diagramme de Pourbaix (cf. Figure 4-25) une plus grande part de fer dissout sous forme libre. De plus les apports en fer des eaux continentales se font par la solubilisation de particules issues de l'érosion continue présente dans les cours d'eau. Ceci implique un renouvellement du fer réactif photochimiquement qui, même s'il est inhibé peu à peu par une interaction avec la matière organique, bénéficie de sources nouvelles fraîchement solubilisées. Au contraire le renouvellement des sources de fer dans un nuage est beaucoup plus faible avec le vieillissement de la masse d'air. Dans celle-ci les aérosols ont subi de nombreux cycles de condensation et d'évaporation avec à la clef des interactions fortes qui se créent entre le fer et la matière organique.

4.3.2 La photochimie du peroxyde d'hydrogène

4.3.2.1 Résultats de terrain

4.3.2.1.1 Le H_2O_2 dans les nuages du puy de Dôme

Le H_2O_2 a été mesuré dans 94 échantillons prélevés au cours de 30 événements nuageux. Ses concentrations vont de 0,1 μM à 19,0 μM . Si l'on considère l'ensemble de ces échantillons on obtient des valeurs moyennes de 6,6 μM avec une médiane de 4,9 μM et un écart-type de 6,0 μM . Cet écart-type s'explique par la grande variabilité des concentrations observées au cours d'un même événement nuageux. Ces résultats sont en accord avec les multiples campagnes de mesures disponibles dans la littérature (cf. Tableau 2-8) même si les concentrations maximales mesurées au pdD se situent parmi les plus faibles observées.

4.3.2.1.2 Artefact de prélèvement

L'étude des concentrations en H_2O_2 en fonction des températures observées au sommet du pdD pendant les prélèvements (cf. Figure 4-26) montre que pour les températures inférieures à $-1^\circ C$ l'intervalle entre les concentrations minimales et maximales est plus faible. En fait à ces températures le prélèvement ne se fait plus sous forme liquide car les gouttelettes ont tendance à geler au moment de l'impact sur la plaque. Or ce passage brutal des gouttelettes en phase solide est susceptible d'entraîner une désorption du H_2O_2 aqueux. En effet pour un milieu aqueux le rapport entre les concentrations en phase solide et liquide est inférieur à 1 en cas de changement d'état de la phase liquide à la phase solide. Ces phénomènes de désorption étant bien entendu accrus par la faible taille des gouttelettes d'eau nuageuses gelant au moment de l'impaction.

$$\frac{[H_2O_2]_{glace}}{[H_2O_2]_{liquide}} < 1$$

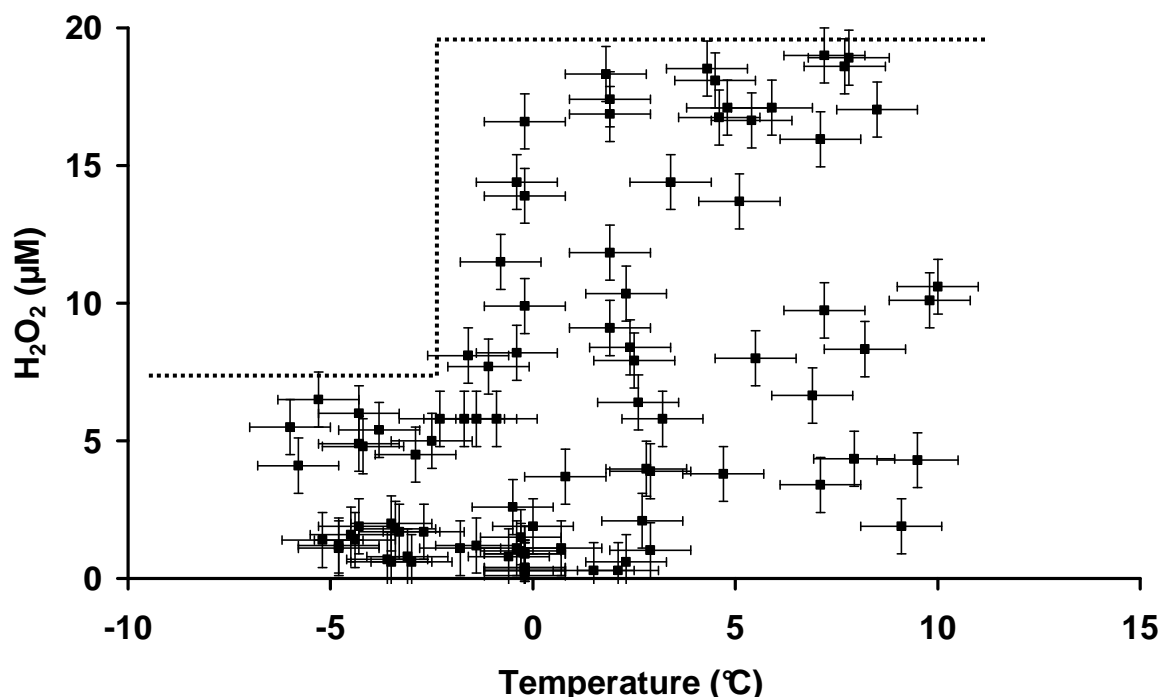


Figure 4-26 : Concentrations en H_2O_2 mesurées en fonction de la température au sommet du pdD pendant le prélèvement.

Sur la Figure 4-26 on voit qu'il ne semble pas évident de trouver un réel seuil de température à partir duquel les phénomènes de désorption se manifestent avec notamment une zone de température comprise entre -2°C et $+2^\circ\text{C}$ présentant une forte hétérogénéité. En conséquence nous étudieront plus particulièrement les valeurs de H_2O_2 des échantillons ayant bénéficié d'une température de prélèvement supérieure à $+2^\circ\text{C}$. Ainsi, on observe des concentrations comprises entre $0,3 \mu\text{M}$ et $19,0 \mu\text{M}$ avec une valeur moyenne de $10,5 \mu\text{M}$, une médiane de $10,1 \mu\text{M}$ et un écart-type de $6,3 \mu\text{M}$. Ces valeurs seront utilisées dans la suite de la discussion sur la photochimie du H_2O_2 .

Le coefficient de désorption peut être estimé en partant du principe que nos intervalles de concentrations observés devraient être semblables en dessous de -2°C et au dessus de $+2^\circ\text{C}$. Ainsi en considérant la moyenne de l'intervalle $< -2^\circ\text{C}$ ($3,8 \mu\text{M}$) et celle de l'intervalle $> +2^\circ\text{C}$ ($10,5 \mu\text{M}$) nous pouvons estimer le coefficient de désorption de la manière suivante :

$$R = 1 - \frac{[C]_{>+2^\circ\text{C}} - [C]_{<-2^\circ\text{C}}}{[C]_{>+2^\circ\text{C}}}$$

Ce calcul du coefficient de désorption (R), où $[C]_{>+2^{\circ}\text{C}}$ représente la moyenne des concentrations en H_2O_2 de l'intervalle supérieur à $+2^{\circ}\text{C}$ et $[C]_{<-2^{\circ}\text{C}}$ représente la moyenne des concentrations de l'intervalle inférieur à -2°C , permet d'obtenir une valeur de 0,36. Ce rapport signifie que environ 2/3 du H_2O_2 présent en phase liquide est désorbé au cours de la congélation brutale des gouttelettes de nuage. Il faut noter que l'on obtient une valeur assez semblable ($R = 0,34$) en utilisant les concentrations maximales des intervalles précédemment cités.

4.3.2.1.3 Concentrations gazeuses

En utilisant nos concentrations trouvées en phase aqueuse nous pouvons estimer la concentration théorique de la phase gazeuse interstitielle en utilisant la loi de Henry, même si elle n'est peut-être pas vérifiée pour les gouttelettes de nuage. Avec une constante de Henry $K_H = 10,0.10^5 \text{ M.atm}^{-1}$ et une pression atmosphérique au sommet du puy de Dôme $P_{\text{atm}} = 860 \text{ hPa}$ correspondant à 0,85 atm, on peut calculer les concentrations gazeuses selon :

$$[H_2O_2]_{\text{gazeux}} = \frac{[H_2O_2]_{\text{aqueux}}}{K_H \times P_{\text{atm}}}$$

En ne considérant que les échantillons présentant des températures de prélèvement supérieures à $+2^{\circ}\text{C}$ on obtient des concentrations gazeuses comprises entre 4 pptv et 224 pptv en accord avec les mesures effectuées dans la phase gazeuse interstitielle disponible dans la littérature (cf. 2.2.5.5). Malgré l'absence de mesures directe en phase gazeuse pendant nos prélèvements, ces valeurs gazeuses calculées nous confortent dans notre gamme de concentration observée dans la phase aqueuse du nuage.

4.3.2.1.4 Variabilité jour/nuit

Les variations entre les concentrations observées le jour et la nuit doivent permettre de mettre en évidence un éventuel cycle photochimique du peroxyde d'hydrogène. En ne considérant que les événements présentant des échantillons de jour et nuit dans des conditions de températures supérieures à $+2^{\circ}\text{C}$ (représentant 18 échantillons pour 4 événements nuageux), on moyenne les valeurs diurnes et nocturnes pour chaque événement avant de les normaliser par les valeurs diurnes. De cette façon on observe qu'en moyenne les concentrations nocturnes sont inférieures de 50% aux valeurs diurnes. Ceci indique une production photochimique qui peut se dérouler aussi bien en phase gazeuse qu'en phase aqueuse d'après la littérature.

Les artefacts de prélèvement dus au gel à l'impaction des gouttelettes ne nous permettent pas de mettre en évidence de cycle annuel en ce qui concerne les maxima saisonniers du H_2O_2 .

4.3.2.1.5 Effet de la climatologie

Si l'on considère les moyennes diurnes et nocturnes des concentrations en H_2O_2 selon l'origine des masses d'air prélevées au moment de l'échantillonnage (et en ne considérant toujours que l'ensemble des échantillons présentant des températures de prélèvement supérieures à $+2^\circ\text{C}$, soit 40 échantillons pour 16 événements nuageux) le cycle photochimique semble en relation avec le type de masse d'air (cf. Figure 4-27).

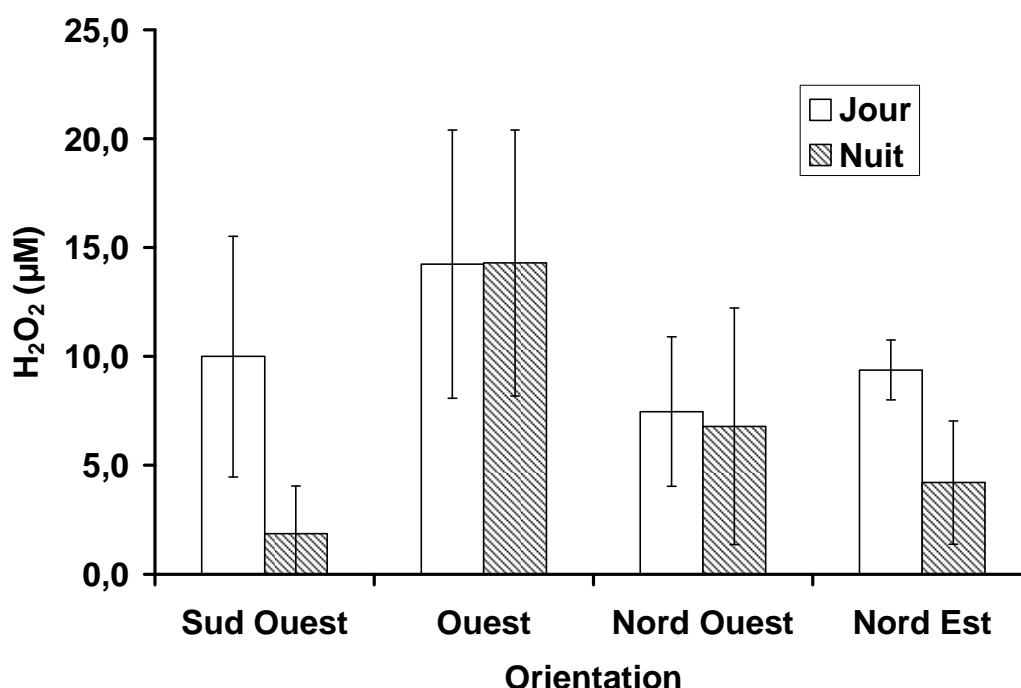


Figure 4-27 : Moyennes diurnes et nocturnes en fonction de l'origine de la masse d'air (le Nord n'est pas représenté car il ne dispose d'aucun échantillon utilisable).

Comme nous l'avons vu précédemment chaque origine se distingue par des caractéristiques chimiques différentes avec des degrés plus ou moins importants d'anthropisation. Sur la Figure 4-27 il est évident que les concentrations en H_2O_2 sont plus importantes pour les masses d'air en provenance de l'ouest sous forte influence océanique. Ceci peut être attribué à une diminution de la source gazeuse de H_2O_2 dans les masses d'air sous influence anthropique, du fait des réactions du radical HO_2^\bullet avec le NO gazeux ou à des réactions aqueuses comme l'oxydation du S(IV) en S(VI) par le H_2O_2 . Cette dépendance des

concentrations en H_2O_2 avec les éléments anthropiques est en accord avec les résultats trouvés par Deng and Zuo, 1999. De plus si l'on compare les valeurs diurnes et nocturnes pour chaque orientation on observe une diminution plus importante dans le cas des orientations les plus sous influence anthropique (nord-est et sud-ouest) mettant peut être en évidence une consommation du H_2O_2 aqueux par les phénomènes d'oxydation du S(IV) en S(VI). Cette consommation est visible la nuit là où elle n'est pas contrebalancée par la production diurne.

Si l'on compare (cf. Figure 4-28) plus précisément deux événements assez semblables pour ce qui est des dates de prélèvement mais très différents par leurs origines, leurs pH et leurs quantités de SO_4^{2-} d'origine non marine (nssSO_4^{2-}) :

- #39 : 28 septembre 2005 – pH moyen = 5,9 – $[\text{H}_2\text{O}_2]_{\text{max}} = 18,5 \mu\text{M}$ – $\text{nss SO}_4^{2-} = 44,5\%$
- #40 : 3 octobre 2005 – pH moyen = 4,4 – $[\text{H}_2\text{O}_2]_{\text{max}} = 10,3 \mu\text{M}$ – $\text{nss SO}_4^{2-} = 96,3\%$

On observe une diminution nocturne très nette du H_2O_2 dans le cas de l'événement sous influence anthropique (#40) alors que l'événement sous influence océanique (#39) montre des concentrations plus stables indiquant que le H_2O_2 n'est pas consommé dans ce cas.

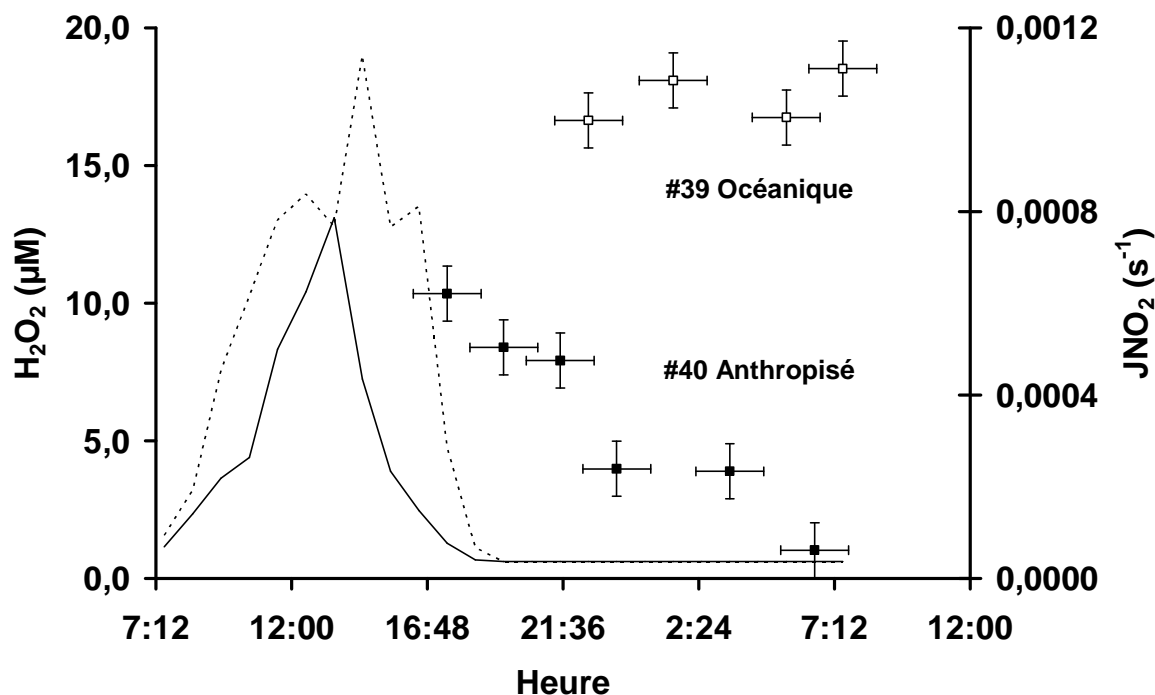


Figure 4-28 : Comparaison de l'évolution des concentrations en H₂O₂ (points) pour deux événements (#39 Océanique □ et #40 Anthropisé ■) avec le JNO₂¹ de ces mêmes prélèvements (lignes en pointillés pour l'océanique et pleine pour l'anthropique).

On voit ainsi que le H₂O₂ de la phase aqueuse des nuages est sous l'influence d'au moins deux phénomènes : une production photochimique importante qui peut s'expliquer aussi bien par des phénomènes se déroulant en phase gazeuse qu'en phase aqueuse, ainsi qu'une consommation qui semble liée au degré d'influence anthropique subi par la masse d'air. Il faut noter aussi qu'il est difficile de mettre en évidence un cycle saisonnier dans la mesure où les prélèvements se déroulant en période hivernale se font sous forme d'échantillons gelés.

4.3.2.2 Irradiations de laboratoire

Afin d'obtenir des informations sur la photochimie imputable à la seule phase aqueuse nous avons effectué des irradiations sur des échantillons aqueux de nuages prélevés au sommet du pdD. Afin de pouvoir nous affranchir des concentrations initiales différentes de chacun de ces événements nuageux irradiés nous raisonnerons en terme de :

$$\ln\left(\frac{C}{C_0}\right) = f(t) = -k \times t$$

¹ Taux de photolyse du NO₂ en s⁻¹.

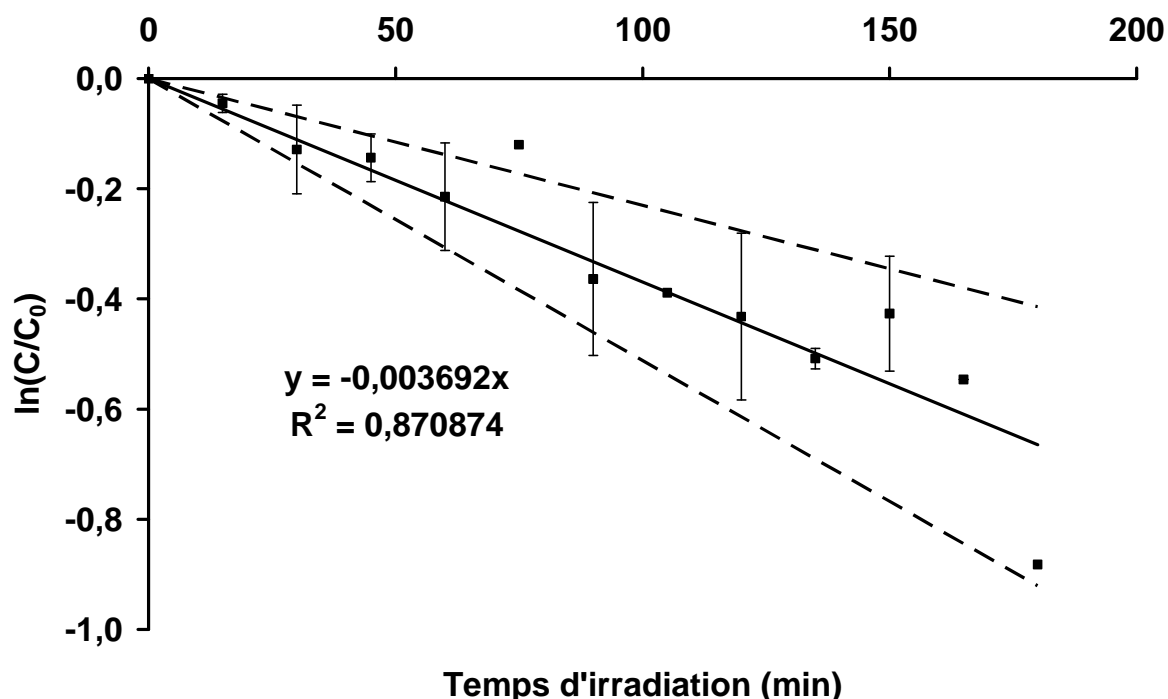


Figure 4-29 : Evolution du H₂O₂ au cours de 7 irradiations d'eau nuageuse sous influence océanique.

Au cours de 7 expériences d'irradiation effectuées sur des échantillons de nuage prélevés (spécifiquement pour ces irradiations) pendant des événements sous influence océanique nous avons observé à chaque fois une diminution des concentrations en H₂O₂ (cf. Figure 4-29). Cette diminution s'effectue avec un temps de demi-vie moyen dans nos conditions expérimentales de 3,1 heures avec un intervalle allant de 2,3 à 5,0 heures. Cette observation indique que les phénomènes de production de H₂O₂ en phase aqueuse semblent inférieurs aux phénomènes de disparition photochimique. En effet la disparition du H₂O₂ n'est réellement sensible que sous irradiation. Le H₂O₂ dissocié photochimiquement peut donc être considéré comme une source potentielle de radicaux HO[•] dans la phase aqueuse des nuages. De plus, si l'on considère le fait que les concentrations diurnes sont plus fortes que celles nocturnes en phase aqueuse, on peut penser que la principale source de H₂O₂ dans les gouttelettes des nuages prélevées au pdD provient du transfert *via* la phase gazeuse.

4.3.2.3 Conclusions sur le peroxyde d'hydrogène

Mis à part les artefacts de prélèvement dus au gel des gouttelettes de nuages durant l'impaction en hiver, nos mesures ont permis de mettre en évidence un certain nombre de points importants sur le comportement du H₂O₂ dans les nuages.

Tout d'abord il existe un cycle photochimique du H_2O_2 dans les nuages présentant des valeurs diurnes généralement plus élevées que les valeurs nocturnes. De plus ce cycle photochimique est sous forte influence du degré d'anthropisation de la masse d'air. En effet, les masses d'air présentant les influences anthropiques les plus élevées ont des concentrations diurnes plus faibles que celles sous influence océanique ainsi qu'une perte en H_2O_2 conséquente la nuit. Enfin nos expériences d'irradiation en laboratoire sur des masses d'air océaniques ont montré sans ambiguïté la disparition par photolyse du H_2O_2 en phase aqueuse, ce qui conduit à conclure que la source principale du H_2O_2 aqueux passe par le transfert de masse depuis la phase gazeuse interstitielle.

De part sa photolyse aqueuse et son efficace transfert de la phase gazeuse interstitielle, le H_2O_2 constitue probablement une des sources principales de radicaux HO^\bullet dans la phase aqueuse des nuages.

4.3.3 Bilan sur les sources de radicaux HO^\bullet

Nos mesures effectuées *in situ* ainsi que nos expériences de laboratoire conduites aussi bien sur des solutions modèles que sur des échantillons de nuages réels semblent montrer que le rôle du fer en tant que source de radicaux HO^\bullet est très faible. A contrario le H_2O_2 , produit majoritairement en phase gazeuse, de part son transfert efficace dans les gouttelettes de nuage constitue un réservoir conséquent de radicaux HO^\bullet produits par photolyse.

De plus la faible réactivité chimique du fer dans la phase aqueuse des nuages prélevée au pdD est confirmée par les concentrations nocturnes en H_2O_2 observées notamment durant les événements sous influence océanique où la très faible disparition du H_2O_2 ne va pas dans le sens des réactions de Fenton sensées gouverner la chimie nocturne du fer dans les hydrométéores.

Après avoir étudié ces deux sources potentielles de radicaux HO^\bullet dans les gouttelettes de nuage, nous allons maintenant nous intéresser à la comparaison entre les réactivités dues à la photochimie et à la biocatalyse.

4.4 Comparaison photochimie et biocatalyse

Afin de comparer les phénomènes de dégradation photochimique et microbiologique nous avons effectué des expériences tout d'abord en séparant les deux processus avec des solutions relativement similaires puis en combinant directement les deux processus sur ces mêmes solutions. Dans ce cadre nous avons travaillé avec des solutions de nuage « artificiel ». Ces solutions sont une première étape vers la création de milieux « artificiels » plus complexes et pour ensuite étudier directement en laboratoire l'eau de nuage prélevée au puy de Dôme. De plus, ces expériences ont permis de simuler la composition de la phase aqueuse du nuage de masses d'air sous différentes influences (océanique et anthropique) et donc de mettre en évidence l'influence des ions inorganiques majeurs sur les attaques des acides carboxyliques par les radicaux HO^\bullet . Ce travail a été effectué, pour la partie microbiologique, en collaboration avec Mickaël Vaïtilingom en stage de Master 2 Recherche au SEESIB sous la responsabilité de Anne-Marie Delort et Martine Sancelme.

4.4.1 Composition des solutions modèles

Ces solutions de nuage « artificiel » ont été préparées avec les contraintes des produits disponibles commercialement et celles d'obtenir des solutions suffisamment proches des concentrations habituellement observées dans les nuages en essayant d'élaborer deux milieux assez distincts pour représenter des masses d'air différentes (cf. Tableau 4-5). Tous les milieux présentent des concentrations identiques en acides carboxyliques ce qui est assez cohérent avec nos résultats de terrain et permet de mettre en évidence un éventuel effet dû à la composition différente en ions des masses d'air sous influences océanique et anthropique. Ces dernières se distinguent par un pH plus bas ainsi que par des concentrations beaucoup plus fortes en NO_3^- et NH_4^+ , les autres ions présentant des concentrations assez similaires entre les deux types de milieu. Un troisième milieu ne contenant que des acides carboxyliques a été préparé afin de pouvoir évaluer l'influence des ions sur les cinétiques de dégradation des acides carboxyliques présents en solution.

Ces derniers ont été choisis pour plusieurs raisons : leur bonne séparation en chromatographie ionique, leur concentration généralement importante dans la phase aqueuse des nuages échantillonnée, ainsi que pour les données déjà existantes en terme de biodégradation (Amato *et al.*, 2005 ; Amato *et al.*, 2007(c)).

Composé	Milieux (μM)		
	Océanique	Anthropique	Organique
A. acétatique	20,0	20,0	20,0
A. formique	14,5	14,5	14,5
A. succinique	1,5	1,5	1,5
A. oxalique	3,0	3,0	3,0
Cl^-	320	320	0
NO_3^-	70	200	0
SO_4^{2-}	34,8	50,0	0,0
Na^+	311,4	250,7	0,0
NH_4^+	70	200	0
K^+	10	10	0
Mg^{2+}	10	10	0
Ca^{2+}	40	40	0
pH	6,0 ~ 6,5	4,7 ~ 5,5	4,9

Tableau 4-5 : Composition des solutions artificielles.

Les expériences présentées ensuite ont été conduites sur les milieux décrits dans le Tableau 4-5 à deux concentrations différentes :

- Tout d'abord sur des milieux aux concentrations du Tableau 4-5 caractéristiques de la phase aqueuse du nuage. Dans ce cas, toujours dans un souci de conserver les proportions du nuage, les concentrations en microorganismes étaient de 1.10^5 cellules.mL⁻¹ pour les biodégradations alors que pour les photodégradations 23 μM de H_2O_2 sont ajoutés.
- Ensuite sur des milieux 10 fois plus concentrés que ceux présentés dans le Tableau 4-5. Dans ce cas, pour garder les proportions de la phase aqueuse des nuages, les concentrations en microorganismes pour les biodégradations et en H_2O_2 dans le cas des expériences photochimiques étaient elles mêmes 10 fois plus concentrées que celles observées dans les nuages (soit 1.10^6 cellules.mL⁻¹ et 230 μM de H_2O_2). Ceci nous permet de suivre plus facilement les modifications du milieu avec des évolutions de concentrations plus conséquentes.

4.4.2 Photodégradations

Les photodégradations (milieux 10 fois plus concentrés et milieux aux concentrations des nuages) sont conduites avec et sans H_2O_2 pour mettre en évidence les phénomènes de photolyse directe et indirecte ainsi que la photochimie des nitrates. De plus, différentes concentrations en H_2O_2 ont été testées afin de mettre en évidence l'influence des concentrations en H_2O_2 sur les dégradations des acides carboxyliques.

L'irradiation des solutions modèles nous permet d'acquérir un certain nombre d'informations :

- Nous avons également travaillé à différentes concentrations en H_2O_2 afin de regarder un éventuel effet de concentration de ce dernier. Ces expériences sont conduites sur le milieu océanique 10 fois plus concentré que le nuage à trois concentrations différentes de H_2O_2 (46 μM , 230 μM et 575 μM) ont montré assez logiquement des cinétiques plus rapides de dégradation de l'acide formique (cf. Figure 4-30) et de l'acide succinique en faveur des milieux où le H_2O_2 était le plus concentré (cf. Tableau 4-6). Cependant nous n'avons pas de proportionnalité entre les concentrations en H_2O_2 et les vitesses de disparition des acides carboxyliques. Ceci est tout à fait normal quand on sait que les radicaux HO^\bullet formés vont également réagir avec le H_2O_2 présent dans la solution. L'acide acétique ne montre pas de dégradation nette dans aucune des expériences menées. L'acide oxalique présente des résultats peu cohérents difficilement explicables en l'absence de répliquats et d'une gamme plus fine de concentrations en H_2O_2 .

H_2O_2 (μM)	k (min^{-1})	
	A. formique	A. succinique
46	0,00036	0,00002
230	0,00072	0,00023
575	0,00152	0,00036

Tableau 4-6 : Comparaison des constantes apparentes de dégradation de l'acide formique et de l'acide succinique en milieu océanique 10 fois plus concentré pour trois concentrations différentes de H_2O_2 .

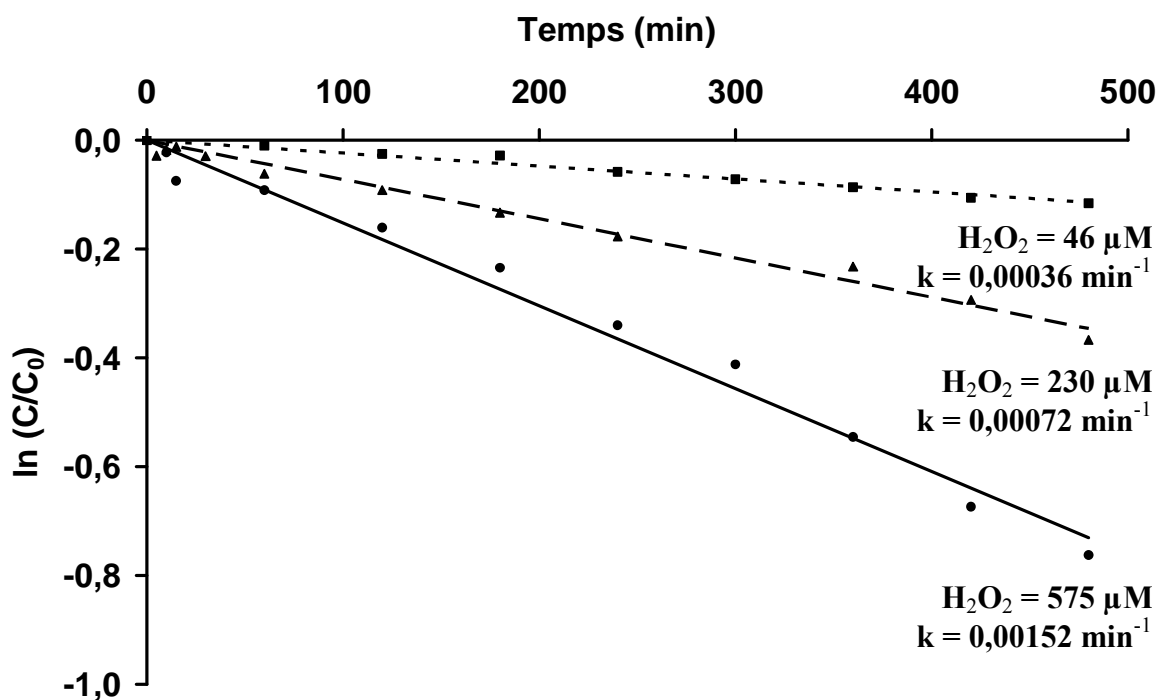


Figure 4-30 : Cinétiques du premier ordre de dégradation de l'acide formique en milieu océanique (10 fois plus concentré) pour trois concentrations différentes en H_2O_2 (46 μM , 230 μM et 575 μM)

- Effet de concentrations des milieux : les expériences conduites sur des milieux aux concentrations du nuage ont montré un fort ralentissement des cinétiques de dégradation par rapport à celles conduites dans des milieux 10 fois plus concentrés. Les constantes cinétiques apparentes sont 50% plus élevées pour l'acide formique (cf. Figure 4-31) et l'acide oxalique dans le cas des milieux 10 fois plus concentrés, l'acide acétique présentant des vitesses de dégradation très faibles et des résultats peu reproductibles, l'acide succinique n'étant pas dégradé significativement dans les milieux aux concentrations des nuages.

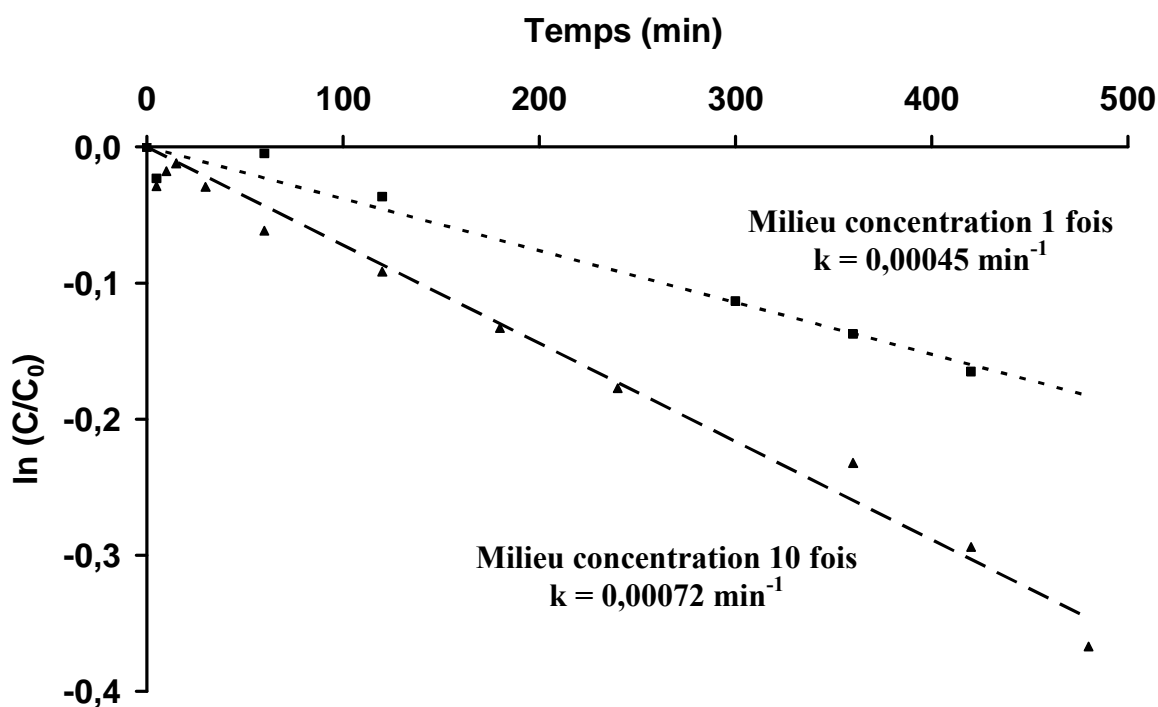


Figure 4-31 : Cinétique du premier ordre de dégradation de l'acide formique pour les milieux 10 fois plus concentrés et à la concentration du nuage.

Ce ralentissement de la dégradation des acides carboxyliques dans les milieux les moins concentrés est certainement dû au nombre de photons absorbés par H_2O_2 et donc de la quantité de HO^\bullet formés par rapport à la quantité de composés organiques et inorganiques présents. A la concentration du nuage, la combinaison de ces facteurs semble moins favorable à la dégradation des acides carboxyliques.

- Effet des nitrates :
 - 700 μM de NO_3^- (milieu océanique 10 fois plus concentré) : en l'absence de H_2O_2 le milieu océanique montre une absence de dégradations à l'exception de l'acide oxalique. Celle-ci est due à la photolyse directe de l'acide oxalique dont la constante cinétique apparente de dégradation ne représente alors que 10% de celle en présence de H_2O_2 .

- 2000 μM de NO_3^- (milieu anthropique 10 fois plus concentré) : dans le cas du milieu sous influence anthropique une dégradation de l'acide formique est observée en l'absence de H_2O_2 contrairement au milieu océanique. Cette dégradation est, pour le milieu anthropique, deux fois moins importante qu'en présence de H_2O_2 .
- Dans les deux milieux privés de H_2O_2 l'acide oxalique conserve la même constante cinétique apparente de dégradation. Les nitrates ne semblent pas avoir d'effet significatif sur un acide faiblement réactif comme l'acide oxalique.
- Dans le cas du milieu anthropique 10 fois plus concentré l'acide formique présente une constante cinétique apparente de dégradation en l'absence de H_2O_2 d'environ la moitié de celle qu'il a en présence de H_2O_2 . On peut donc en déduire que les fortes quantités de NO_3^- (2000 μM) présentes dans le milieu sous influence anthropique (un peu moins de 10 fois supérieures aux concentrations en H_2O_2 de 230 μM) induisent la formation de radicaux susceptibles de dégrader les acides carboxyliques.
- Effet des ions en tant que piège à radicaux HO^\bullet (en présence de H_2O_2) : si pour l'acide oxalique le passage d'un milieu océanique à un milieu sous influence anthropique ne semble pas modifier les cinétiques, la situation est tout autre pour l'acide formique qui présente des cinétiques près de deux fois plus rapides en milieu sous influence anthropique. Ceci est vrai aussi bien dans les milieux 10 fois plus concentrés que dans les milieux à des concentrations représentatives des nuages. Par contre si l'on compare ces dégradations aux cinétiques obtenues avec un milieu purement organique on observe des cinétiques assez semblables pour l'acide formique par rapport au milieu océanique. L'acide oxalique pour sa part suit une cinétique près de deux fois plus rapide en milieu purement organique. La présence d'ion a donc un effet inhibiteur sur la dégradation de l'acide oxalique par les HO^\bullet .

4.4.3 Biodégradations

Les biodégradations (milieux 10 fois plus concentrés) permettent des test de différentes souches (souche unique), des test à différentes températures (17°C, 12°C et 5°C) avec des variations du nombre de microorganismes (1.10^6 , 1.10^7 et 1.10^8 cellules.mL⁻¹)

Les expériences de biodégradation sont conduites sur les milieux océanique et anthropique à différentes températures (17°C, 12°C et 5°C) avec la souche 12b-8 (*Pseudomonas syringuae*) isolée des échantillons de nuage du puy de Dôme. Cette souche 12b-8 a été choisie pour ses capacités à se développer à basse température ainsi que pour son potentiel de biodégradation très fort qui avait été mis en évidence par des tests nombreux de type souche unique / substrat unique. Ces expériences montrent plusieurs points importants :

- Effet de la température : les expériences conduites à des températures différentes (17°C, 12°C et 5°C) ne montrent pas d'influence très sensible sur l'activité de biodégradation de cette souche qui conserve même à 5°C ses capacités. En effet elle dégrade plus de 90% de chaque substrat en 30 heures quelle que soit la température testée.
- Effet des différents milieux : les taux de dégradations ne sont pas très différents d'un milieu à l'autre à l'exception de l'acide succinique. En effet l'acide succinique semble présenter des taux de biodégradations plus importants en milieu anthropique par la souche 12b-8. En milieu anthropique il lui faut 3 heures pour dégrader 90% de l'acide succinique contre 30 heures en milieu océanique. L'acide formique est pour sa part dégradé très rapidement si bien qu'il est difficile de confirmer une tendance. On ne voit donc pas d'effet simple du pH ou des plus fortes concentrations en NO₃⁻ sur l'activité de la souche testée. Un autre point intéressant réside dans la capacité qu'ont les bactéries à modifier le pH de leur milieu pour le ramener vers la neutralité en quelques heures seulement.
- La souche 12b-8 ne dégrade pas l'acide oxalique, ce substrat n'est donc pas utilisé par cette souche. On ne peut en aucun cas extrapoler de ce comportement des généralités sur les autres souches isolées des nuages. Mais il serait intéressant de savoir si ce comportement est le même pour d'autres organismes isolés des nuages.

Bien que cette souche 12b-8 ne soit pas la seule présente dans les nuages et que les contraintes en milieu naturel soient plus importantes que celles des expériences de

biodégradation, on n'observe tout de même que l'acidité, les basses températures et un milieu complexe ne sont pas des freins importants à l'activité de cette souche bactérienne.

4.4.4 Bilan Photodégradations vs biodégradations

La comparaison directe des constantes apparentes de dégradation, obtenues dans les expériences de photodégradation, et des taux de dégradation obtenus dans les expériences de biodégradation avec la souche 12b-8 est difficilement réalisable. On peut déjà signaler que les vitesses de dégradation semblent être du même ordre de grandeur (de quelques $\mu\text{M.h}^{-1}$). Cependant on observe que l'acide acétique est uniquement dégradé par les microorganismes (souche 12b-8) alors que l'acide oxalique se dégrade exclusivement par voie photochimique (en ce qui concerne la souche 12b-8).

4.4.5 Expérience combinée de photodégradation et Biodégradation

Une expérience combinée de dégradation photochimique et microbiologique a été conduite sur le milieu anthropisé 10 fois plus concentré que le nuage. Au cours de cette expérience nous avons étudié l'évolution d'un milieu mis sous irradiation avec la souche 12b-8 et 230 μM de H_2O_2 . En même temps le même milieu dans des conditions semblables mais sans irradiation a été analysé. Cette expérience a permis de mettre en évidence des résultats préliminaires intéressants :

- Effet du H_2O_2 sur les microorganismes : dans le témoin à l'obscurité (appelé « combinée au noir » et donc en présence de H_2O_2) les taux de biodégradation de la souche 12b-8 ont été quasiment les mêmes que pour les expériences conduites sans ajout de H_2O_2 (cf. Tableau 4-7). La présence de ce composé connu pour ses propriétés bactéricides ne semble pas avoir d'effet sur la souche 12b-8. Seule la biodégradation de l'acide formique semble être affectée par la présence du H_2O_2 .

Expérience	Taux de dégradation ($\mu\text{M.h}^{-1}$)			
	A. acétique	A. formique	A. succinique	A. oxalique
Biodégradation simple	2	7	1	0
Photochimie seule (*)	0	9	n.d.	2
Combinée sous irradiation (*)	7	8	< 1	2
Combinée au noir (*)	2	4	1	0

Tableau 4-7 : Comparaison des taux de biodégradation ($\mu\text{M.h}^{-1}$) en milieu anthropisé entre les biodégradations simple, les photodégradations simples et l'expérience combinée (* = en présence de H_2O_2 – n.d. = non déterminé).

- Comparaison entre photodégradation et biodégradation (cf. Tableau 4-7) : la dégradation de l'acide acétique est beaucoup plus performante dans l'expérience combinée sous irradiation montrant que dans ce cas un effet de synergie semble se dégager de l'expérience simultanée. L'acide formique garde des cinétiques assez semblables à celles sous photochimie en présence de H_2O_2 et en biodégradation simple montrant que pour ce composé il n'y a pas de synergie des deux processus. L'acide succinique semble présenter une inhibition de l'activité microbiologique puisqu'il est moins bien dégradé dans l'expérience commune que dans la biodégradation seule. Enfin l'acide oxalique est dégradé de la même manière entre photochimie avec H_2O_2 pure et photochimie couplée à la microbiologie.
- Effet des radicaux sur les microorganismes : l'activité des microorganismes de la souche 12b-8 ne semble pas avoir été affectée de manière importante par la présence d'espèces radicalaires susceptibles pourtant de présenter une toxicité vis-à-vis des organismes bactériens.

En l'absence de répliquat il est difficile de se prononcer sur la comparaison des différentes cinétiques obtenues. Cependant il apparaît de ces expériences que la combinaison des deux approches photochimique et microbiologique est réalisable et qu'elle est le meilleur moyen de comparer les cinétiques et l'efficacité de ces deux voies. De plus nous avons montré que les processus simultanés ne sont que très rarement néfastes à la dégradation des acides carboxyliques, au contraire ils peuvent avoir un effet très positif comme dans le cas de l'acide acétique.

4.5 Voies de dégradation des acides carboxyliques

Comme nous l'avons vu précédemment, les voies de dégradation des acides carboxyliques sont encore peu étudiées au-delà du C₂. Seuls les travaux de Ervens *et al.*, 2004(a) développent ces aspects jusqu'aux C₅. Cependant les mécanismes proposés d'attaque par les radicaux HO• des acides dicarboxyliques restent théoriques et ne rendent pas compte de la diversité des voies de dégradation. En conséquence, au vu de la complexité des mécanismes mis en jeu et des voies de dégradations des acides carboxyliques ainsi que de leur relativement faible documentation dans la littérature, il semble logique d'aborder le problème par une étude au cas par cas en laboratoire des voies de dégradation des différents acides carboxyliques. Ces résultats pourront ensuite être comparés aux observations et aux expériences conduites dans la littérature. L'objectif est de documenter au mieux ces voies de dégradation afin qu'elles puissent être éventuellement incorporées dans un modèle.

4.5.1 Etude de laboratoire

L'objectif de cette partie de l'étude est de renseigner les voies de dégradation par attaque des radicaux HO• sur les différents acides carboxyliques qui ont été identifiés dans la phase aqueuse des nuages, que nous étions capables de mesurer. A ces acides carboxyliques ont été adjoints deux aldéhydes (le formaldéhyde et l'acétaldéhyde) qui sont les plus abondamment observés dans la phase aqueuse des nuages. Nous avons utilisé le H₂O₂ comme source photochimique de radicaux HO• *via* sa photolyse tout d'abord car cela allait dans le sens de nos résultats sur les sources de ces radicaux dans la phase aqueuse des nuages mais aussi pour des raisons techniques. En effet le H₂O₂ à forte concentration présente moins d'interférences avec les acides carboxyliques et leur analyse par chromatographie ionique que les autres sources que nous aurions pu utiliser que sont les sels ferriques ou les nitrates.

4.5.1.1 Généralités sur l'attaque par les radicaux HO^\bullet

4.5.1.1.1 Mécanisme d'attaque par les radicaux HO^\bullet

Dans cette partie nous allons aborder tout d'abord les mécanismes d'attaque des chaînes alkyles par les radicaux HO^\bullet (Von Sonntag and Schuchmann, 1991 ; Von Sonntag and Schuchmann, 1997 ; Poulain, 2005) qui sont ensuite utilisés abondamment pour les voies d'attaque des acides carboxyliques et des aldéhydes par ces mêmes radicaux.

En effet, pour la plupart des voies de dégradations abordées ensuite, l'attaque des hydrogènes présents sur les chaînes alkyles des acides carboxyliques semble privilégiée. L'arrachement d'un atome d'hydrogène par le radical HO^\bullet entraîne la formation d'une molécule d'eau et avec l'ajout d'une molécule de dioxygène la formation d'un radical peroxy (cf. Figure 4-32). La décomposition monomoléculaire du radical peroxy a été observée dans de nombreux cas à partir du radical α -hydroxyle-peroxy. Dans ce cas cette décomposition conduit à la libération de $\text{HO}_2^\bullet/\text{O}_2^\bullet$ et à la formation d'un produit avec une fonction carbonyle. Il faut cependant noter que cette décomposition est caractéristique des radicaux α -hydroxyle-peroxy. Dans la littérature, il est également fait état de la réactivité du radical peroxy avec les radicaux HO_2^\bullet qui conduirait à la formation d'hydroperoxyde organique. Cependant, d'après les résultats de Poulain, 2005, il apparaît que cette voie reste très minoritaire. Il faut aussi noter que la réaction d'un radical peroxy, situé sur une chaîne alkyle, sur un composé organique est négligeable (Stemmler and Von Gunten, 2000(a)).

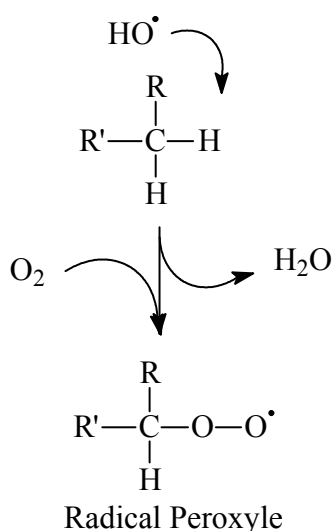


Figure 4-32 : Mécanisme général d'attaque d'une chaîne alkyle par les radicaux HO^\bullet (d'après Von Sonntag and Schuchmann, 1991 et Von Sonntag and Schuchmann, 1997).

Ainsi, dans notre étude, les réactions monomoléculaires du radical peroxyde seront généralement négligées en accord avec les études précédentes. De plus la réaction bimoléculaire, aussi appelée « self-reaction », est une voie importante du devenir du radical peroxyde en phase aqueuse (Von Sonntag and Schuchmann, 1991 ; Von Sonntag and Schuchmann, 1997). La réaction du radical peroxyde sur lui-même sera donc généralement la seule considérée dans notre cas. Elle conduit à la formation d'un composé tétraoxyde qui possède 4 voies de transformation possibles (cf. Figure 4-33) :

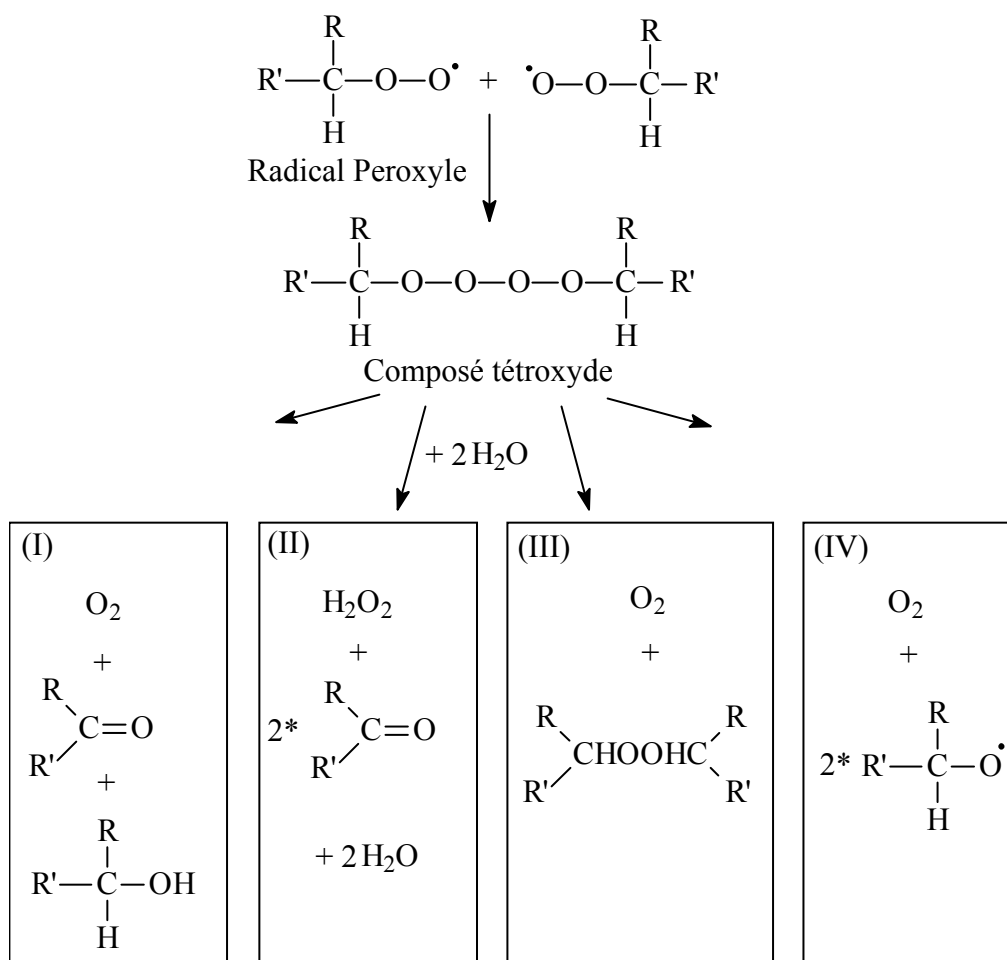


Figure 4-33 : Mécanisme général d'attaque d'une chaîne alkyle par les radicaux HO[•] (d'après Von Sonntag and Schuchmann, 1991 et Von Sonntag and Schuchmann, 1997).

- La voie (I), appelée réaction de Russel, au cours de laquelle le radical tétroxyde subit une réaction électrocyclique (sans formation d'intermédiaires radicalaires) avec un état de transition passant par la formation d'un cycle au niveau de la chaîne d'atomes d'oxygène (cf. Figure 4-34). Cette voie conduit à la formation d'oxygène moléculaire, d'une cétone et d'un alcool. Dans nos conditions expérimentales l'alcool devrait évoluer rapidement en une fonction cétone ou un aldéhyde (en fin de chaîne).

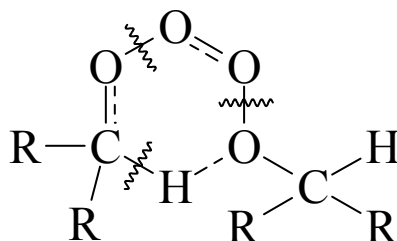


Figure 4-34 : Etat de transition proposé pour la réaction de Russel.

- La voie (II) est une autre réaction électrocyclique mettant en œuvre deux molécules d'eau avec formation de deux cycles comprenant la chaîne d'atome d'oxygène et ces molécules d'eau (cf. Figure 4-35). Cette réaction entraîne la formation d'une molécule de H_2O_2 et de deux fonctions cétones.

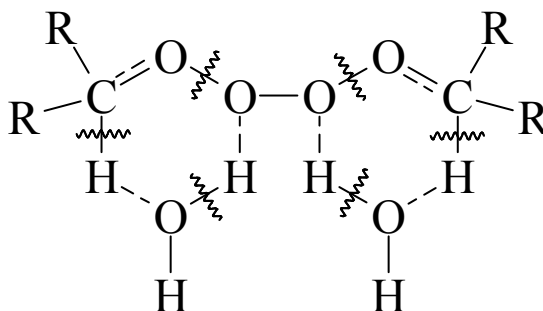


Figure 4-35 : Etat de transition proposé pour la voie (II).

- La voie (III) est une recombinaison du tétroxyde conduisant à la formation d'une molécule de O_2 et au composé $RR'CHOOCHRR'$. Ce composé peut également se former par réaction des radicaux alkoxyle de la voie (IV) sur eux-même. Ce composé se décompose ensuite en présence d'eau en un produit carbonylé et un produit hydroxylé identiques à ceux formés dans la voie (I).

- Dans la voie (IV) la décomposition thermique du radical téroxyde en oxygène moléculaire et deux radicaux alkoxydes va pouvoir suivre 3 voies différentes (la recombinaison de ces deux radicaux étant très faible en phase aqueuse) (cf. Figure 4-36) :
 - Une réaction de dismutation (IVi) qui conduit aux mêmes produits que la réaction de Russel (I).
 - Le réarrangement (IVii) catalysé par l'eau des radicaux alkoxydes (par transfert d'hydrogène) ce qui conduit après intervention de l'oxygène à la formation de deux composés carbonylés identiques à ceux de la voie (II).
 - Des réactions de β -fragmentation à partir du radical alkoxyde entraînant soit la formation de composés carbonylés à chaîne carbonée plus courte (fonctions cétones, aldéhydes) et de radicaux R^\bullet et R'^\bullet dont l'évolution en présence d'oxygène a été abordée précédemment, soit la formation de la fonction carbonylée identique à celle formée dans les voies I, II, III, IVi et IVii

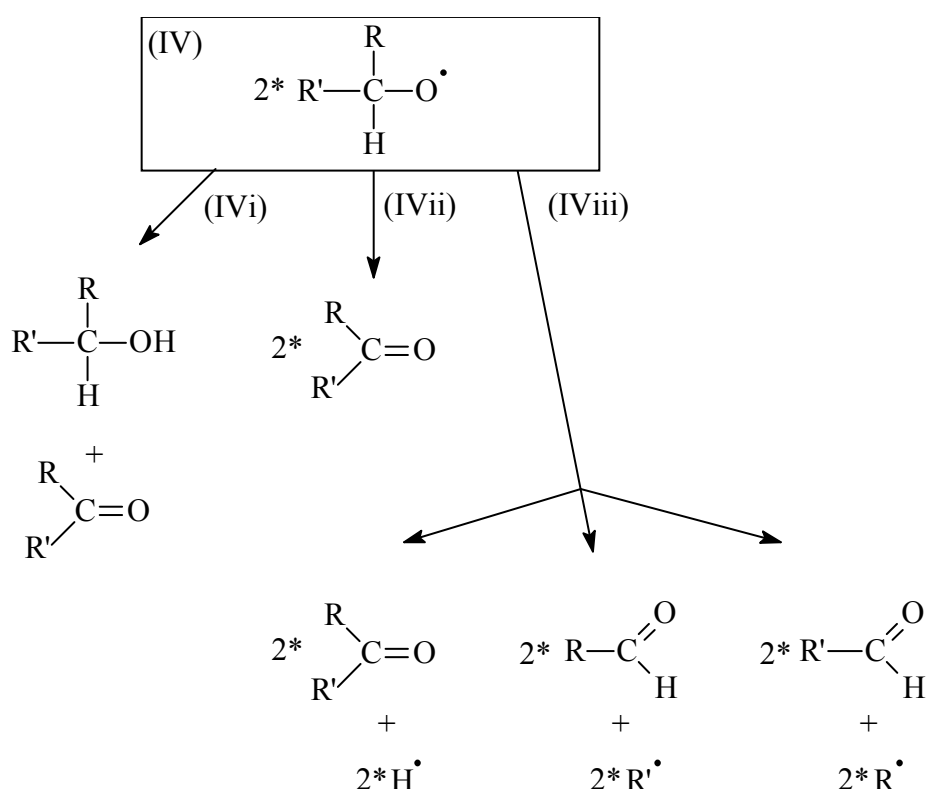


Figure 4-36 : Devenir des radicaux alkoxydes issus de la voie (IV) (d'après Von Sonntag and Schuchmann, 1991).

On voit que quelles que soient les voies considérées on obtient globalement des fonctions cétones et des aldéhydes ainsi que des fonctions alcools dans certains cas. Si l'on remplace dans cet ensemble de réactions la chaîne alkyle R' par un hydrogène (cas d'une attaque sur le méthyle en fin de chaîne alkyle) la proportion de fonctions aldéhydes produites sera bien entendu encore plus importante. Si l'on prend en compte l'ensemble des produits formés, qu'ils soient carbonylés (aldéhydes et cétones) ou hydroxylés, on s'aperçoit qu'ils se retrouvent à l'identique dans différentes voies. Ainsi, des fonctions carbonylées semblables sont formées via toutes les voies et des fonctions hydroxylées identiques sont formées par les voies (I), (III) et (IVi).

Dans les mécanismes qui vont suivre nous considérerons donc principalement les 3 β -fragmentations de la voie (IViii) qui conduisent entre autre à des produits d'oxydation à chaîne carbonée plus courte. Nous ne faisons aucune hypothèse sur les voies les plus favorables et nous gardons à l'esprit la formation du produit hydroxylé qui ne peut être identifié par notre système d'analyse de chromatographie ionique qui ne possède pas de détecteur de masse. De plus, comme cela est indiqué dans le paragraphe suivant, la réactivité du radical hydroxyle sera plus favorable sur un carbone tertiaire par rapport à carbone secondaire puis à un carbone primaire. Il faut noter qu'à partir d'un carbone tertiaire, l'arrachement d'un atome d'hydrogène par un radical ne permet plus la réalisation des voies (I), (II), (III), (IVi) et (IVii). Dans ce cas la voie (IViii) est la seule envisageable.

4.5.1.1.2 Stabilité des radicaux

La stabilité d'un radical est liée à la force de la liaison que l'on va rompre. Plus la liaison est faible en terme d'énergie de dissociation (E_d en KJ.mol^{-1}) et plus le radical sera stable. De plus, il faut garder à l'esprit qu'il est plus facile de former un radical en arrachant un hydrogène sur un carbone tertiaire que sur un carbone secondaire et ainsi de suite.

4.5.1.1.3 Devenir du radical HOOC^\bullet

Le radical HOOC^\bullet apparaîtra fréquemment parmi les produits des voies de dégradation des différents composés que nous avons étudiés. Ce radical est en fait généralement présent sous sa forme dissociée puisque son pK_a est très faible ($pK_a = 1,4$) (cf. [108]).



Afin de ne pas nous répéter inutilement, sa voie de dégradation est abordée tout de suite. On peut voir que ce radical très instable donne par recombinaison du CO_2 et un radical

HO_2^\bullet (cf. Figure 4-37) susceptible de participer à la formation d'une nouvelle molécule de H_2O_2 . Une autre voie de disparition de ce radical serait envisageable avec une molécule de O_2 (similaire aux phénomènes décrits dans la Figure 4-33 et la Figure 4-36) mais il est assez probable que la recombinaison des charges soit plus rapide qu'une réaction mettant en jeu une autre molécule.

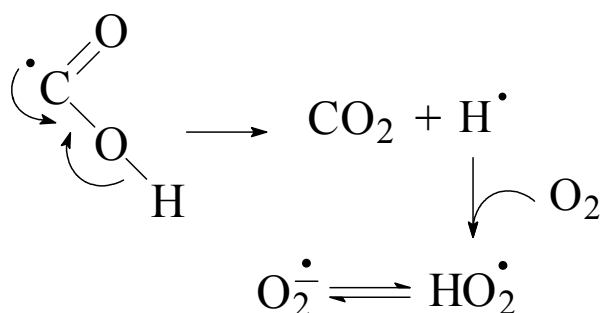


Figure 4-37 : Mécanisme général de recombinaison du radical HOOC^\bullet .

4.5.1.2 Voies de dégradation sous irradiation en présence de H_2O_2

4.5.1.2.1 Conditions expérimentales

Ces irradiations utilisent le système d'irradiation avec la lampe Xénon (décrit en 3.4.1.3). Sauf mention contraire chaque composé a été irradié pendant 4 à 8 heures à une concentration de 1 mg.L^{-1} avec $11,5 \text{ mM}$ de H_2O_2 (Sigma Aldrich, 35% dans H_2O non stabilisé). Des prélèvements sont effectués pour les temps suivants : t_0 (avant ajout du H_2O_2), t_0' (après ajout du H_2O_2) et à 5, 10, 15, 30, 60, 120, 180, 240 minutes et éventuellement 300, 360, 420 et 480 minutes. L'évolution d'un échantillon identique, gardé au noir, est suivie en parallèle. Les blancs d'irradiation (eau ultra pure uniquement) n'ont mis en évidence aucune pollution.

Nous avons travaillé sur les composés présentés dans le Tableau 4-8. Ces composés ont été choisis selon leur abondance naturelle dans l'eau des nuages mais aussi selon leur intérêt dans les schémas de dégradation de la littérature. Il s'agit de 7 acides monocarboxyliques, 6 acides dicarboxyliques et de 2 aldéhydes.

Composé	Formule	k HO• (M ⁻¹ .s ⁻¹)	pKa
Acide formique	$\text{H}-\text{C} \begin{array}{l} \text{O} \\ \parallel \\ \text{OH} \end{array}$	A. formique : 1,0.10 ⁸ Formate : 2,4.10 ⁹	3,76
Acide acétique	$\text{CH}_3-\text{C} \begin{array}{l} \text{O} \\ \parallel \\ \text{OH} \end{array}$	A. acétique : 1,7.10 ⁷ Acétate : 7,0.10 ⁷	4,75
Acide glycolique	$\text{HO}-\text{CH}_2-\text{C} \begin{array}{l} \text{O} \\ \parallel \\ \text{OH} \end{array}$	A. glycolique : 6,0.10 ⁸ Glycolate : 8,6.10 ⁸	3,84
Acide propionique	$\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{C} \begin{array}{l} \text{O} \\ \parallel \\ \text{OH} \end{array}$	A. propionique : 3,2.10 ⁸ Propionate : 7,2.10 ⁸	4,87
Acide lactique	$\begin{array}{c} \text{HO} \\ \\ \text{CH}_3-\text{CH}-\text{C} \begin{array}{l} \text{O} \\ \parallel \\ \text{OH} \end{array} \end{array}$	A. lactique : 4,3.10 ⁸ Lactate : 3,0.10 ⁸	3,86
Acide pyruvique	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{CH}_3-\text{C}-\text{C} \begin{array}{l} \text{O} \\ \parallel \\ \text{OH} \end{array} \end{array}$	A. pyruvique : 1,2.10 ⁸ Pyruvate : 7,0.10 ⁸	2,75
Acide oxalique	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{HO}-\text{C}-\text{C} \begin{array}{l} \text{O} \\ \parallel \\ \text{OH} \end{array} \end{array}$	C ₂ O ₄ ²⁻ : 1,6.10 ⁸ C ₂ O ₄ H ⁻ : 1,9.10 ⁸ C ₂ O ₄ H ₂ : 3,2.10 ⁸	1,25 / 4,23
Acide malonique	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{HO}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{C} \begin{array}{l} \text{O} \\ \parallel \\ \text{OH} \end{array} \end{array}$	C ₃ O ₄ H ₂ ²⁻ : 3,0.10 ⁸ C ₃ O ₄ H ₃ ⁻ : 6,0.10 ⁷ C ₃ O ₄ H ₄ : 2,0.10 ⁷	2,80 / 5,67
Acide succinique	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{HO}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C} \begin{array}{l} \text{O} \\ \parallel \\ \text{OH} \end{array} \end{array}$	C ₄ O ₄ H ₄ ²⁻ : 7,0.10 ⁸ C ₄ O ₄ H ₆ : 1,2.10 ⁸	4,23 / 5,64
Acide malique	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{HO}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{OH})-\text{C} \begin{array}{l} \text{O} \\ \parallel \\ \text{OH} \end{array} \end{array}$	C ₄ O ₅ H ₄ ²⁻ : 8,6.10 ⁸ C ₄ O ₅ H ₆ : 7,5.10 ⁸	3,46 / 5,14
Acide tartrique	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{HO}-\text{C}-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}(\text{OH})-\text{C} \begin{array}{l} \text{O} \\ \parallel \\ \text{OH} \end{array} \end{array}$	C ₄ O ₆ H ₄ ²⁻ : 7,0.10 ⁸ C ₄ O ₆ H ₆ : 7,0.10 ⁸	d (mésos) 3,06 (3,11) / 4,38 (4,80)
Acide glutarique	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{HO}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C} \begin{array}{l} \text{O} \\ \parallel \\ \text{OH} \end{array} \end{array}$	C ₅ O ₄ H ₆ ²⁻ : 1,0.10 ⁹ C ₅ O ₄ H ₈ : 8,3.10 ⁸	4,32 / 5,42
Formaldéhyde / Méthanediol	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{H} \end{array} \quad \begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{H} \end{array}$	(diol) 7,8.10 ⁸	
Acétaldéhyde / Ethanediol	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{CH}_3-\text{C} \\ \\ \text{H} \end{array} \quad \begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{H} \end{array}$	(aldéhyde) 3,6.10 ⁹ (diol) 1,2.10 ⁹	
Acide glyoxylique	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}-\text{C}-\text{C} \begin{array}{l} \text{O} \\ \parallel \\ \text{OH} \end{array} \end{array}$	C ₂ O ₃ H ⁻ : 2,6.10 ⁹ C ₂ O ₃ H ₂ : 3,6.10 ⁸	≈ 2,3

Tableau 4-8 : Composés étudiés (formules, constante cinétique d'attaque par les radicaux HO• les plus récentes (cf. Tableau 2-10) et pKa)

4.5.1.2.2 Effet des concentrations initiales en H_2O_2

Conditions initiales : C_0 (A. glutarique) = 7 μM – pH = 5,1 – Durée = 8 heures

A ce pH : 10% sous forme moléculaire – 60% sous forme mono anionique – 30% sous forme di anionique

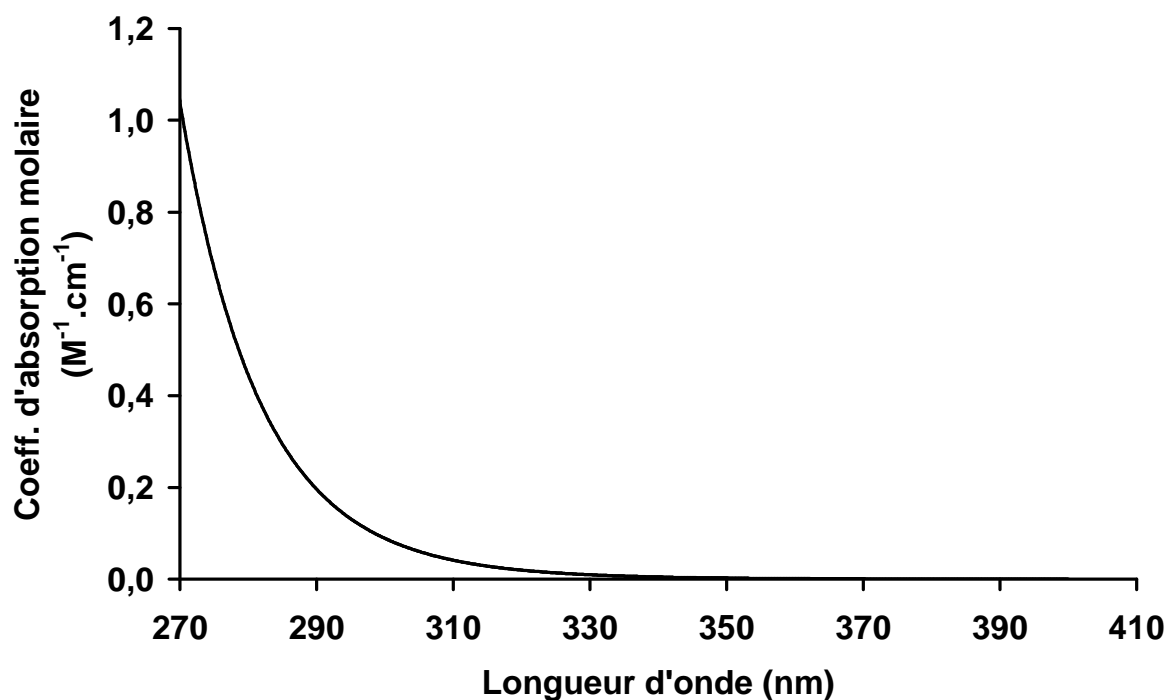


Figure 4-38 : Evolution du coefficient d'absorption molaire ϵ ($M^{-1}.cm^{-1}$) du H_2O_2 en fonction de la longueur d'onde.

L'effet des concentrations initiales en H_2O_2 a été testé sur l'acide glutarique (cf. Tableau 4-9). En effet la photolyse de H_2O_2 (cf. Figure 4-38) produit deux radicaux HO^\bullet qui vont pouvoir réagir sur les molécules présentes en solution. Plus la concentration en H_2O_2 sera importante et plus la quantité de HO^\bullet formée sera forte. Cependant à partir d'une certaine concentration en H_2O_2 (> 12 mM) l'efficacité pour la dégradation de l'acide glutarique devient plus faible. Il est important de noter que le radical HO^\bullet peut aussi réagir sur H_2O_2 lui-même avec une constante de vitesse non négligeable (cf. [109]).



[A. glutarique] (μM)	[H ₂ O ₂] (μM)	k apparente (min^{-1}) (16°C)	% d'attaque des HO•	
			H ₂ O ₂	A. glutarique
7,6	11,5	$0,3 \cdot 10^{-3}$	1%	99%
7,6	57,5	$1,0 \cdot 10^{-3}$	3%	97%
7,6	115	$2,1 \cdot 10^{-3}$	5%	95%
7,6	575	$3,9 \cdot 10^{-3}$	21%	79%
7,6	$1,15 \cdot 10^3$	$5,6 \cdot 10^{-3}$	35%	65%
7,6	$5,75 \cdot 10^3$	$5,3 \cdot 10^{-3}$	73%	27%
7,6	$11,5 \cdot 10^3$	$6,3 \cdot 10^{-3}$	84%	16%
7,6	$11,5 \cdot 10^3$	$6,1 \cdot 10^{-3}$	84%	16%
7,6	$115 \cdot 10^3$	$2,2 \cdot 10^{-3}$	98%	2%

Tableau 4-9 : Conditions initiales en A. glutarique et H₂O₂ ainsi que les constantes apparentes des cinétiques du premier ordre et répartition de l'attaque des radicaux HO• pour l'évaluation de l'effet des concentrations initiales en H₂O₂ pour la dégradation de l'A. glutarique.

Il y a donc compétition pour la réactivité du radical HO• entre l'acide étudié (dans ce cas l'acide glutarique présent sous ses 3 formes à pH = 5,1) et le H₂O₂ présent dans la solution. L'importance de la réactivité de HO• sur ces deux composés peut être évaluée par le produit de la constante de vitesse de HO• sur un composé multiplié par la concentration de ce composé. A pH = 5,1 l'acide glutarique est présent à 10% sous sa forme non ionique ($k = 6 \cdot 10^8 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$), 60% sous sa forme mono-anionique (k inconnu mais estimer pour ce calcul à $8 \cdot 10^8 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$) et à 30% sous forme di-anionique ($k = 1 \cdot 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$). Si l'on compare ces produits pour H₂O₂ et l'acide glutarique on s'aperçoit que la compétition devrait intervenir à une concentration en H₂O₂ assez proche des constantes apparentes maximales observées ($\approx 2,7 \text{ mM}$ qui correspond à l'intersection des deux courbes cf. Figure 4-39).

Cette compétition de réactivité entre les différentes attaques pour le radical hydroxyle, mise clairement en évidence entre H₂O₂ et l'acide glutarique, est un phénomène très important qu'il faut garder à l'esprit pour toutes les études réalisées dans ce domaine.

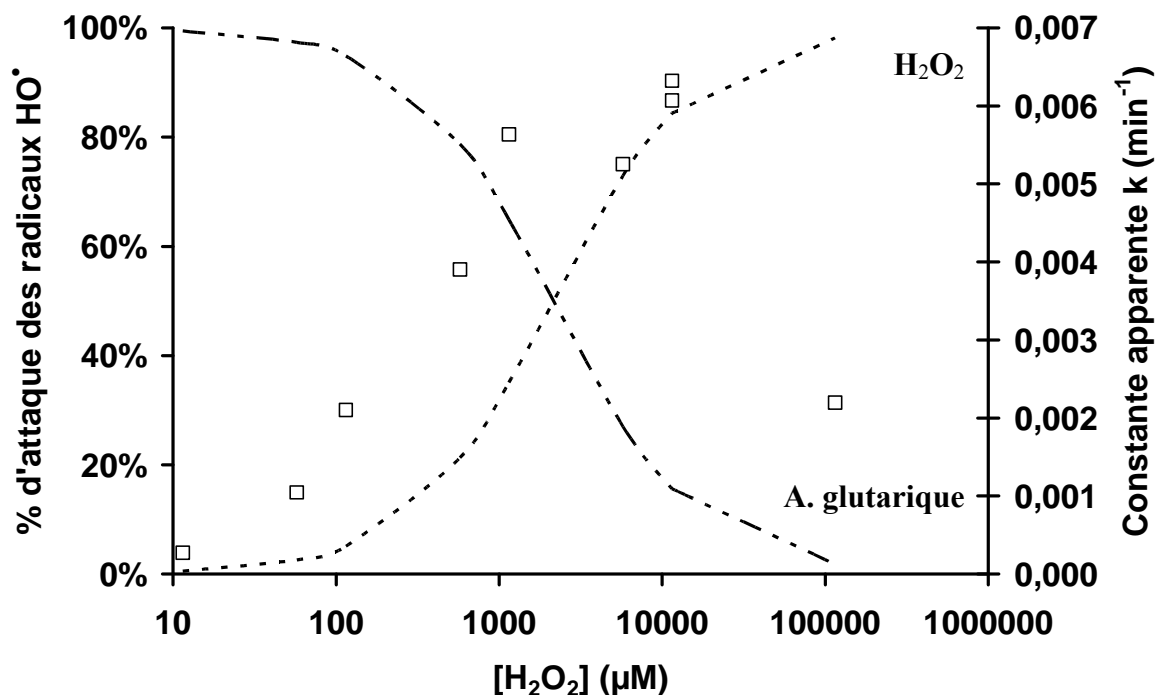


Figure 4-39 : (□) Evolution de la constante apparente de disparition de l'acide glutarique k (min^{-1}) et répartition de l'attaque des radicaux HO^\bullet entre le H_2O_2 (....) et l'acide glutarique (-.-) en fonction des concentrations initiales en H_2O_2 (échelle logarithmique) sous irradiation.

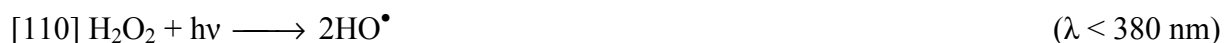
4.5.1.2.3 Comparaison H_2O_2 et nitrate

A titre de comparaison nous avons essayé d'utiliser le nitrate comme source de radicaux dans nos conditions d'irradiation. Cette comparaison a été effectuée avec une concentration de 11,5 μM en NO_3^- sur deux acides carboxyliques, les acides formique et glutarique. On observe des cinétiques relativement semblables pour l'acide glutarique suivant que les sources de radicaux soient la photolyse du H_2O_2 ou celle du NO_3^- . Par contre, pour l'acide formique la constante apparente de réaction est très largement supérieure dans le cas où le H_2O_2 est utilisé comme source de radicaux (cf. Tableau 4-10).

Composé	Constantes cinétiques apparentes k en min^{-1}	
	H_2O_2 (pH \approx 5)	NO_3^- (pH = 2,1)
A. formique (21 μM)	0,0272	0,0061
A. glutarique (7 μM)	0,0061	0,0068

Tableau 4-10 : Comparaison de constantes cinétiques apparentes en utilisant H_2O_2 (11,5 mM) et NO_3^- (11,5 mM) comme source de radicaux pour les acides formique et glutarique.

- Cas du H_2O_2 : la photolyse de ce dernier entraîne la formation de deux HO^\bullet (cf. [110]). Ces deux radicaux vont attaquer de manière compétitive le H_2O_2 (cf. [111]) et l'acide carboxylique en solution (cf. [116] à [122]).

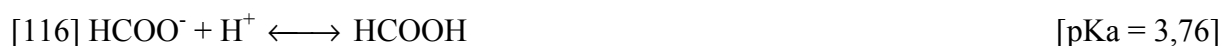


- Cas du NO_3^- : la photolyse de ce dernier entraîne la formation indirectement d'un radical HO^\bullet et d'un NO_2^\bullet (cf. [112] et [113]). Or le radical HO^\bullet va attaquer de manière compétitive l'acide carboxylique mais aussi les NO_3^- et les NO_2^\bullet présents dans la solution (cf. [114] à [122]).



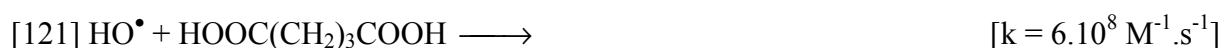
En comparant les constantes cinétiques des différentes réactions et les pKa des différents couples on remarque que :

- Cas de l'acide formique (C_1) : dans l'expérience avec le H_2O_2 il est présent majoritairement sous sa forme anionique plus réactive alors que dans l'expérience avec le NO_3^- il est sous sa forme moléculaire moins réactive. De plus la compétition entre les différentes espèces susceptibles d'être attaquées par les HO^\bullet est beaucoup plus forte dans l'expérience avec les NO_3^- . Ceci explique la constante apparente plus faible observée au cours de l'expérience avec les NO_3^- .



- Cas de l'acide glutarique (C_5) : dans l'expérience avec le H_2O_2 il est présent sous ses trois formes avec une majorité de la forme mono anionique (60%) alors que dans l'expérience avec le NO_3^- il est présent sous sa forme moléculaire (99%). En l'occurrence il serait capital de connaître la diminution de réactivité due au passage des formes anioniques à la

forme moléculaire. Malheureusement nous ne connaissons pas les réactivités de la forme mono anionique. Par comparaison avec les constantes cinétiques des formes moléculaires et anioniques des acides malique (C_4) et tartrique (C_4), on observe que la différence de réactivité est plus faible, quand on passe de la forme moléculaire à la forme anionique sur les acides à longue chaîne carbonée par rapport à l'acide oxalique (C_2). Dans ce cas la différence due aux compétitions entre les différentes formes de l'acide glutarique susceptibles d'être attaquées par les HO^\bullet devrait être plus faible entre les deux expériences. Ceci peut donc expliquer l'écart peu important obtenu entre H_2O_2 et NO_3^- comme source photochimique de HO^\bullet pour l'acide glutarique par rapport à l'acide formique.



Cette explication n'est pas complètement satisfaisante mais en l'absence d'autres données sur les quantités de radicaux NO_2^\bullet en solution et sur la réactivité des radicaux nitrés sur les acides organiques utilisés il est difficile d'aller plus loin. Ces expériences nous confortent dans notre choix d'utiliser le H_2O_2 comme source de radicaux HO^\bullet dans nos voies de dégradation des acides carboxyliques. De plus, il présente moins d'interférence avec le système d'analyse par chromatographie ionique.

4.5.1.2.4 Acide formique (monocarboxylique C_1)

Conditions initiales : $C_0 = 21 \mu\text{M}$ – pH = n.d. – Durée = 4 heures

L'acide formique présente une attaque par le radical HO^\bullet assez simple. Quelles que soient les voies envisagées (cf. Figure 4-40) on observe la minéralisation de l'acide formique en CO_2 ou une recombinaison en acide oxalique. Comme on l'a vu précédemment la voie (IViii) est la seule voie possible à partir d'un carbone tertiaire. De plus il est fort probable que le premier radical formé va se recombiner pour donner du CO_2 et un radical H^\bullet . Il est également envisageable d'obtenir de l'acide oxalique par recombinaison mutuelle des deux radicaux.

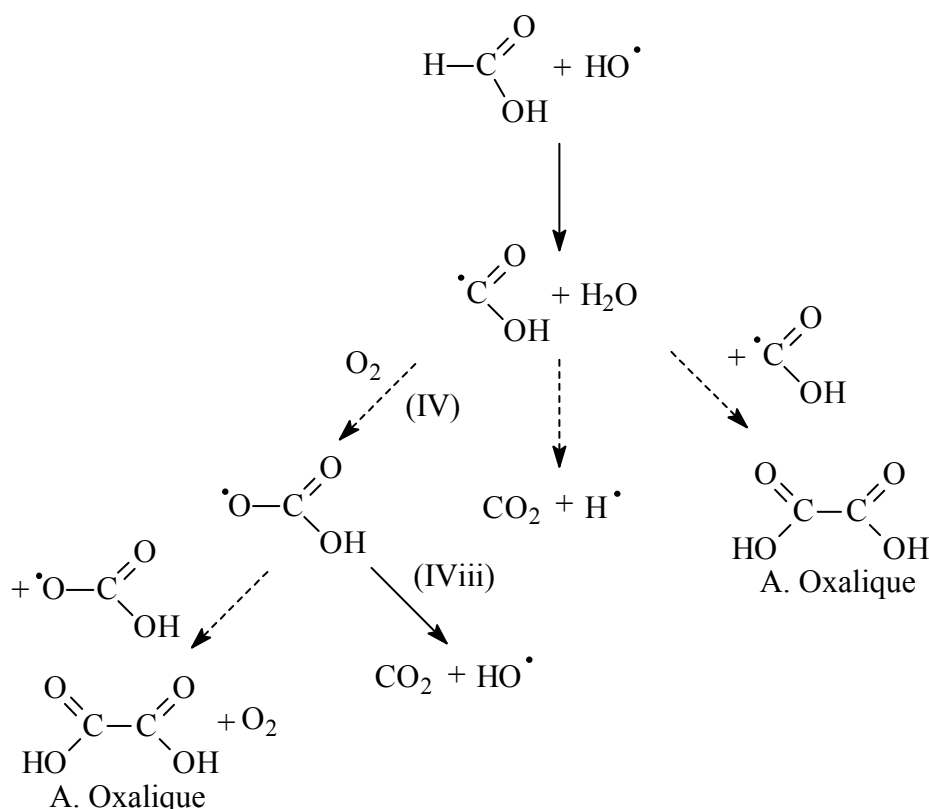


Figure 4-40 : Voies de dégradation de l'acide formique par attaque des radicaux HO^\bullet .

Dans nos conditions expérimentales on observe une légère formation d'acide oxalique correspondant à environ 1% de l'acide formique dégradé. La réaction de recombinaison des radicaux alkoxy ou des radicaux HOOC^\bullet reste donc très minoritaire. La réaction de disparition est très rapide et on obtient un temps de demi-vie de l'ordre de 0,4 heure (calculé d'après la vitesse initiale).

4.5.1.2.5 Acide acétique (monocarboxylique C_2)

Conditions initiales : $\text{C}_0 = 15 \mu\text{M}$ – pH = 5,4 – Durée = 4 heures

A ce pH : 70% sous forme moléculaire – 30% sous forme anionique

L'acide acétique est connu pour être moins aisément attaqué par les radicaux HO^\bullet du fait de la labilité plus faible de ses hydrogènes. Dans nos conditions expérimentales nous n'avons pas réussi à dégrader l'acide acétique malgré des répliquats avec différentes concentrations de H_2O_2 (11,5 mM et 115 μM). Les constantes de réactivité de HO^\bullet sur l'acide acétique et l'acétate, présent majoritairement à pH = 5,4, sont égales à $1,7 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ et $7,0 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ respectivement, alors que celle sur le H_2O_2 est de $3,3 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$. Ces

constantes peuvent expliquer nos observations expérimentales. En effet si à 11,5 mM de H_2O_2 la dégradation de l'acide acétique est négligeable (tous les HO^\bullet réagissent sur H_2O_2), à 115 μM de HO^\bullet environ 1 HO^\bullet sur 5 devrait attaquer l'acide acétique. Cependant dans ces dernières conditions la faible quantité de HO^\bullet photogénérée ne permet pas d'observer une dégradation suffisante. Les voies de dégradation théoriques de l'acide acétique sont tout de même proposées à titre indicatif (cf. Figure 4-41).

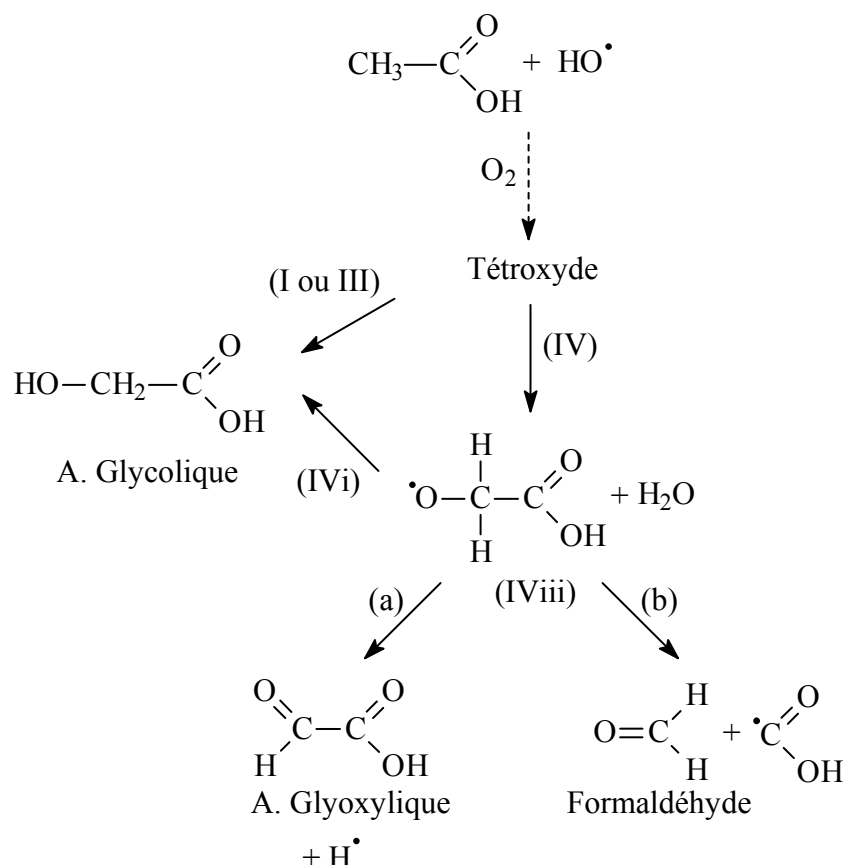


Figure 4-41 : Voies de dégradation théorique de l'acide acétique par attaque des radicaux HO^\bullet .

4.5.1.2.6 Acide oxalique (dicarboxylique en C_2)

Conditions initiales : $\text{C}_0 = 10 \mu\text{M}$ – pH = 5,1 – Durée = 4 heures

A ce pH : 12% sous forme mono anionique – 88% sous forme di anionique

L'acide oxalique dans nos conditions expérimentales peut être dégradé par l'attaque des radicaux HO^\bullet (cf. Figure 4-42) et photolysé (cf. Figure 4-43 et Figure 4-44) directement étant données les longueurs d'ondes auxquelles nous travaillons ($\lambda > 290 \text{ nm}$). Ces deux voies conduisent invariablement à la formation de CO_2 . L'importance relative de ces deux voies

dans nos conditions expérimentales montre une large dominance de l'attaque par les radicaux HO^\bullet avec des temps de demi-vie de l'ordre de 15,5 heures contre 95 heures pour la photolyse directe qui reste mineure dans nos conditions d'irradiation.

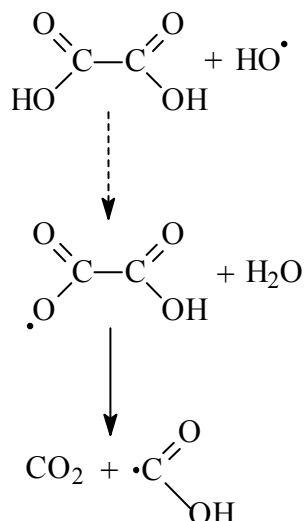


Figure 4-42 : Voie de dégradation de l'acide oxalique par attaque des radicaux HO^\bullet .

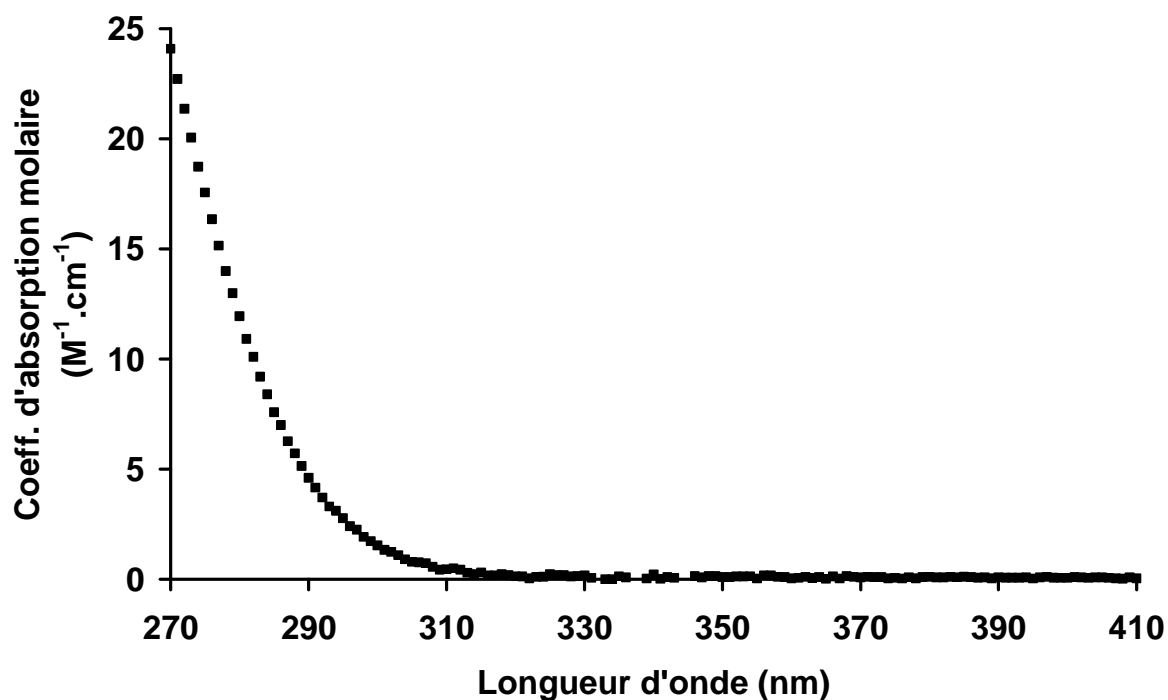


Figure 4-43 : Evolution du coefficient d'absorption molaire ϵ ($\text{M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) de l'acide oxalique.

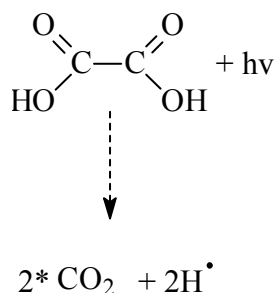


Figure 4-44 : Photolyse de l'acide oxalique.

L'acide oxalique avec un temps de demi-vie de 15,5 heures dans nos conditions expérimentales reste donc un composé relativement stable vis-à-vis des radicaux HO^\bullet .

4.5.1.2.7 Formaldéhyde (aldéhyde en C_1)

Conditions initiales : $\text{C}_0 = 14 \mu\text{M}$ – pH = 5,3 – Durée = 8 heures

En phase aqueuse le formaldéhyde est présent très majoritairement sous sa forme hydratée le méthanediol. L'attaque par les radicaux HO^\bullet de ce dernier permet d'obtenir de l'acide formique (cf. Figure 4-46). Du fait de l'indisponibilité de l'analyseur formaldéhyde nous avons uniquement suivi la formation de l'acide formique.

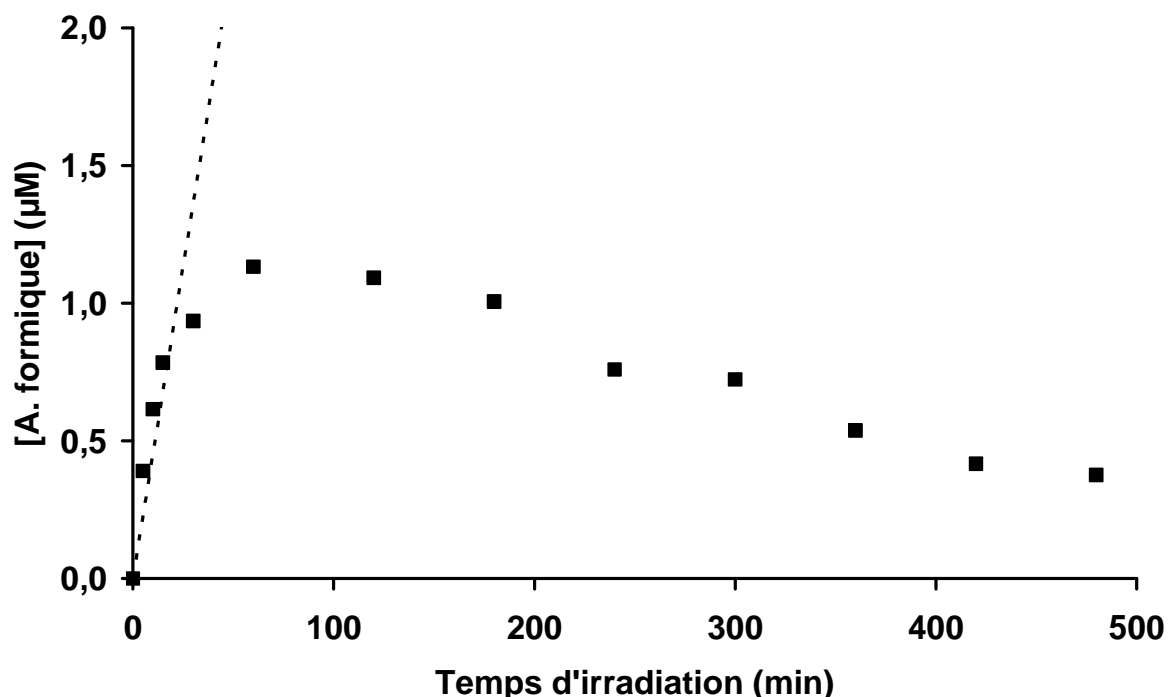


Figure 4-45 : Formation d'acide formique (μM) au cours de l'irradiation du formaldéhyde ayant permis de calculer le temps de demi-vie de ce dernier.

Cette formation nous permet, dans les premiers temps de l'expérience où la compétition entre formation et disparition de l'acide formique n'est pas trop importante (cf. Figure 4-45), d'estimer le temps de demi-vie du formaldéhyde à environ 1,3 heures. D'un point de vue mécanistique deux voies sont envisageables (cf. Figure 4-46) selon que l'on a un réarrangement du radical peroxyde avec production de HO_2^\bullet (a), ou que l'on passe par le tétraoxyde puis par le radical alkoxyde (IViii). Dans la voie (IViii) on peut aussi envisager une β -fragmentation de la liaison C-H qui conduirait à la formation de carbonate. Cependant cette β -fragmentation est largement moins favorable que celle coupant la liaison C-O pour donner de l'acide formique. Il ne rentre pas dans le propos de cette thèse de différencier les deux voies (a) et (IViii) dont les produits sont identiques.

Le formaldéhyde a dans nos conditions expérimentales un temps de demi-vie relativement court vis-à-vis des radicaux HO^\bullet .

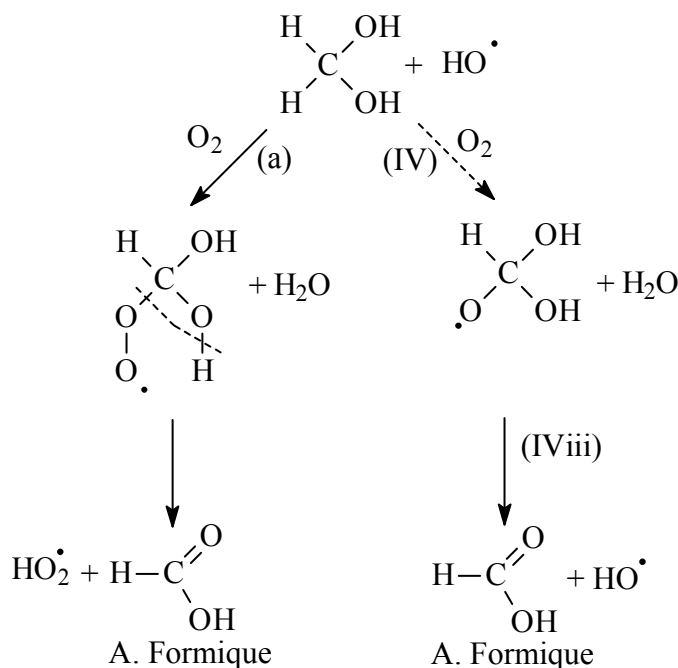


Figure 4-46 : Voies de dégradation du méthanediol par attaque des radicaux HO^\bullet .

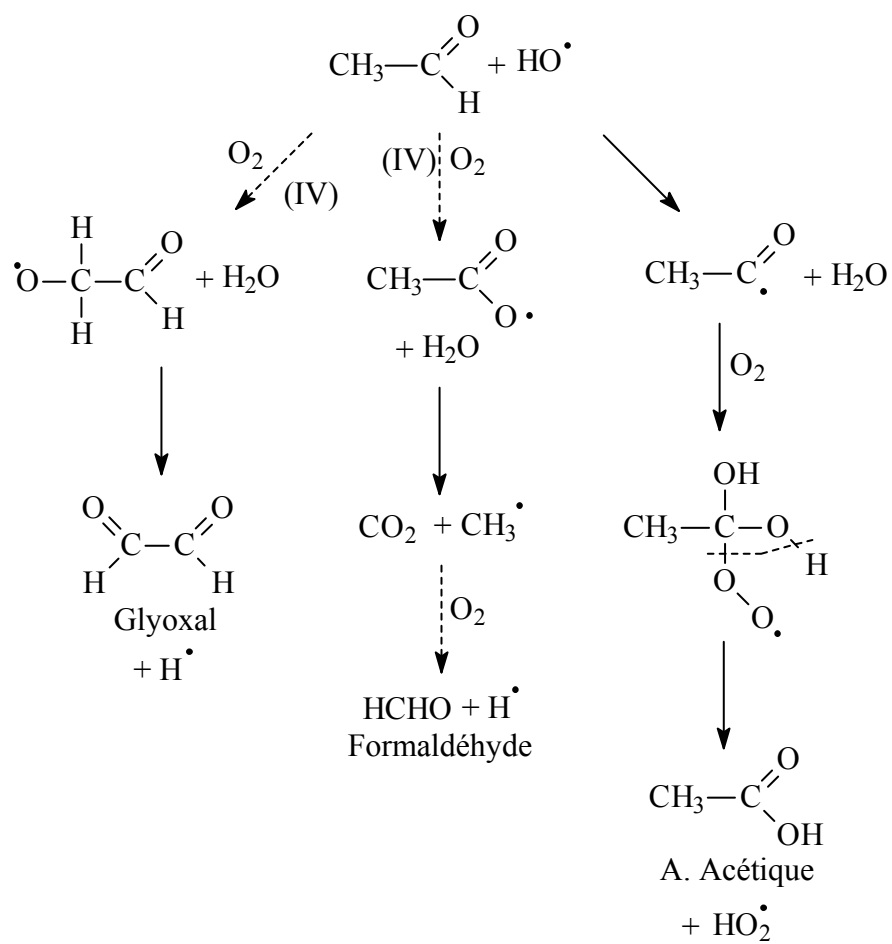
La photolyse directe du formaldéhyde n'a donné lieu à aucune dégradation ce qui n'est pas surprenant puisque le méthanediol n'est à priori pas photolysable dans nos conditions expérimentales.

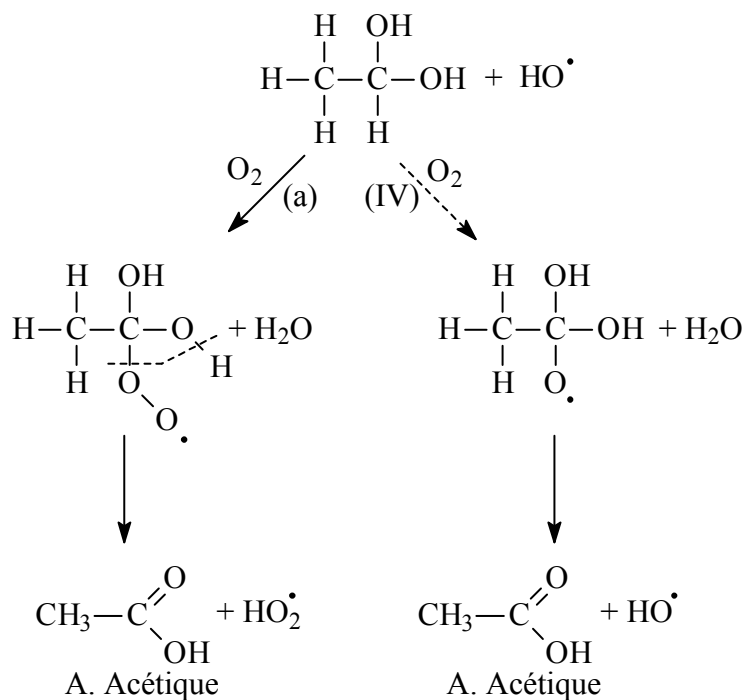
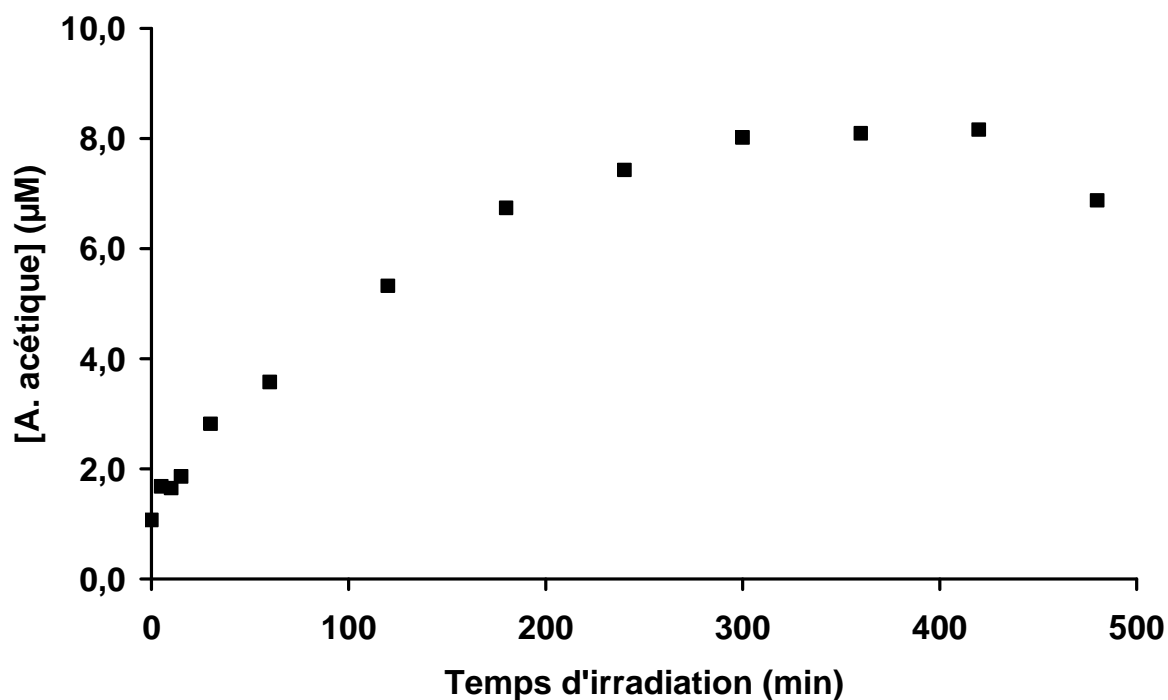
4.5.1.2.8 Acétaldéhyde (aldéhyde en C_2)

Conditions initiales : $\text{C}_0 \approx 10 \mu\text{M}$ – pH = 5,7 – Durée = 8 heures

L'acétaldéhyde a été irradié dans les mêmes conditions. En l'absence de technique d'analyse pour sa mesure directe nous nous sommes penchés sur la formation de l'acide acétique. En solution aqueuse l'acétaldéhyde coexiste avec sa forme hydratée l'éthanediol, on peut donc s'attendre à ce que ces deux composés soient attaqués par les radicaux HO^\bullet (cf. Figure 4-47 et Figure 4-48) (Schuchmann and Von Sonntag, 1988).

Or nous observons une formation majoritaire d'acide acétique suivie d'une légère disparition (cf. Figure 4-49). La formation d'acide acétique correspond à environ 80% de la concentration en acétaldéhyde théorique de la solution irradiée. Le temps de demi-vie ne peut qu'être extrapolé et semble être légèrement plus grand que celui du formaldéhyde entre 1,5 heures et 2,5 heures.


 Figure 4-47 : Voies de dégradation de l'acétaldéhyde par attaque des radicaux HO[•].


 Figure 4-48 : Voie de dégradation de l'acétaldéhyde hydraté par attaque des radicaux HO[•].

 Figure 4-49 : Evolution de la concentration en acide acétique pendant l'irradiation de l'acétaldéhyde en présence de H₂O₂.

Comme on l'a vu pour le formaldéhyde la voie (IV) de la Figure 4-48 pourrait aussi présenter une β -fragmentation résultant en la formation d'un radical méthyle (CH_3^\bullet) et de carbonate. Cependant encore une fois cette β -fragmentation est très peu favorable. L'attaque du carbone primaire ($-\text{CH}_3$) est bien moins favorable que celle sur le carbone tertiaire.

4.5.1.2.9 Acide glyoxylique (monocarboxylique et aldéhyde en C_2)

Conditions initiales : $\text{C}_0 = 14 \mu\text{M}$ – pH = 5,0 – Durée = 4 heures

A ce pH : 100% sous forme anionique

Ce composé possède en même temps un groupement carboxylique et un groupement aldéhyde. Il n'existe que peu de données sur l'hydratation ou non de son groupement aldéhyde. Ervens *et al.*, 2003(a) ont calculé que son hydratation devait être quasi totale dans nos conditions, nous avons donc supposé que son oxydation par attaque des radicaux HO^\bullet sur le modèle de celles du formaldéhyde et de l'acétaldéhyde était envisageable (cf. Figure 4-50 d'après une voie (a) proposée par Karpel Vel Leitner and Doré, 1997). Dans nos conditions expérimentales l'attaque par les radicaux HO^\bullet entraîne une disparition rapide du glyoxylate avec un temps de demi-vie de l'ordre de 0,7 heure. La formation d'acide oxalique (nettement moins réactif vis-à-vis des radicaux HO^\bullet comme nous l'avons vu précédemment) correspond à 1/3 de l'acide glyoxylique dégradé (cf. Figure 4-51). On voit donc que si cette voie d'oxydation n'est pas dominante, elle n'est cependant pas négligeable. Ceci nous amènera à proposer systématiquement dans nos futurs schémas de dégradation l'oxydation des aldéhydes formés en leur acide carboxylique correspondant. Alors que l'acide oxalique ne représente que 1/3 de la dégradation de l'acide glyoxylique, aucun autre produit de dégradation n'a été identifié. Ceci montre que la voie (IV) proposée dans le schéma de dégradation (qui conduit directement à CO_2) est importante. Nous confirmons ainsi dans ce cas le fait de privilégier la formation du radical alkoxyle suivi de β -fragmentation.

L'acide glyoxylique est, comme le formaldéhyde et dans une moindre mesure l'acétaldéhyde, très réactif vis-à-vis des radicaux HO^\bullet . Ces résultats montrent la grande oxydabilité de la fonction aldéhyde vis-à-vis des radicaux HO^\bullet pour conduire à la fonction acide carboxylique correspondante.

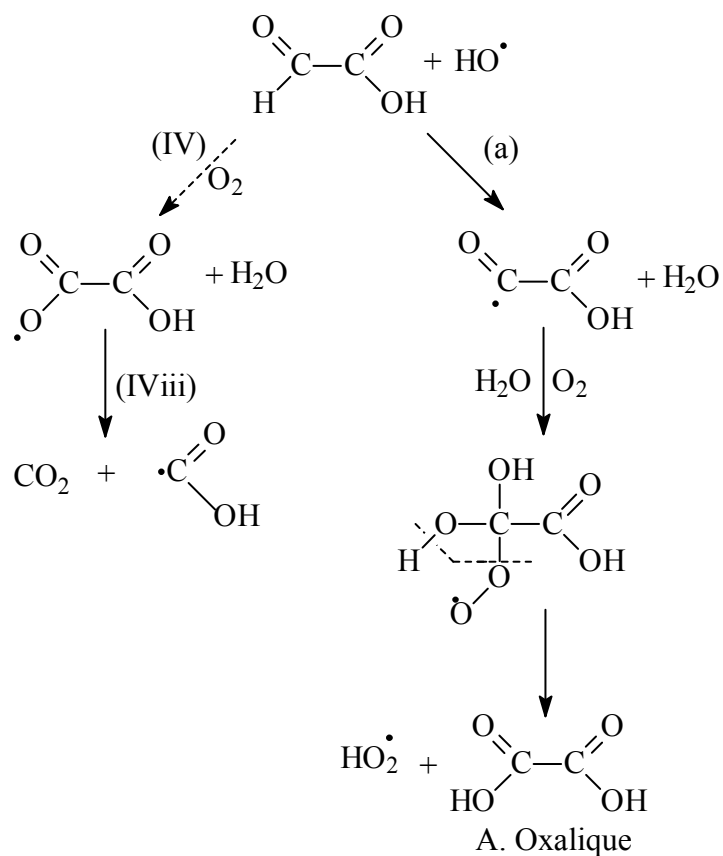


Figure 4-50 : Voies de dégradation de l'acide glyoxylique par attaque des radicaux HO^\bullet .

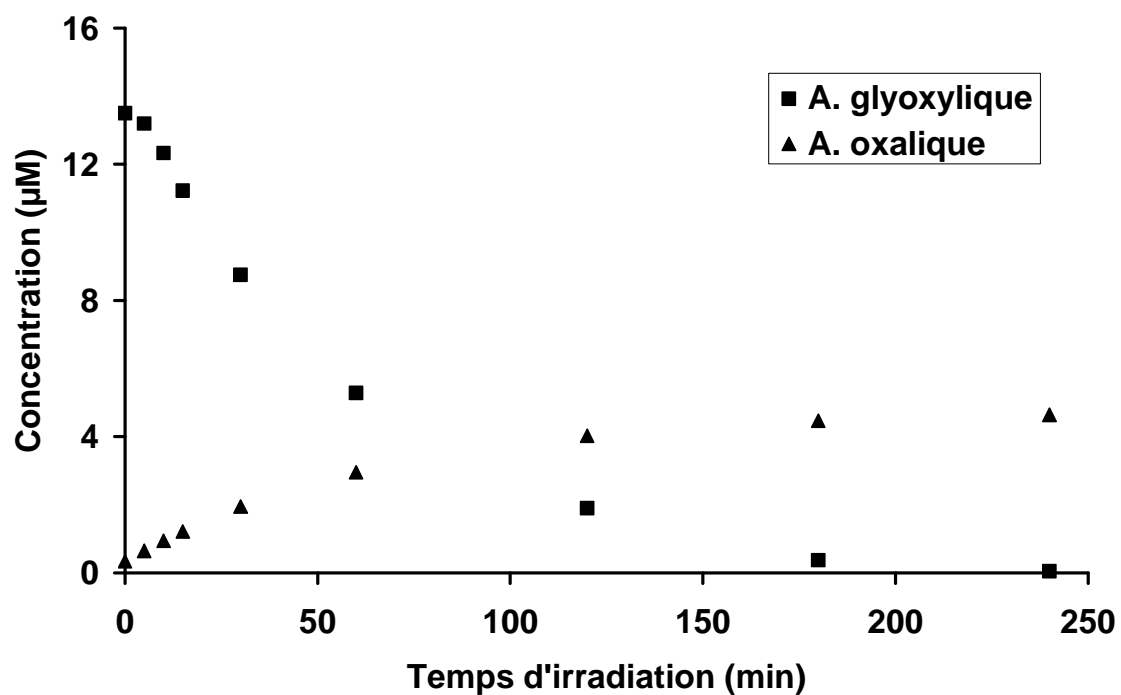


Figure 4-51 : Evolution des concentrations en acide glyoxylique et acide oxalique sous irradiation en présence de H_2O_2 .

4.5.1.2.10 Acide glycolique (monocarboxylique en C₂)

Conditions initiales : C₀ = 14 µM – pH = 5,2 – Durée = 4 heures

A ce pH : 5% sous forme moléculaire – 95% sous forme anionique

L'acide glycolique présente un groupement carboxylique et un groupement alcool. Dans nos conditions expérimentales il se dégrade rapidement avec un temps de demi-vie de 1,9 heures et l'attaque par les radicaux HO[•] résulte en la formation d'acides glyoxylique et/ou formique coélués et d'acide oxalique. Il nous est impossible de séparer les acides formique et glyoxylique si bien qu'il est malaisé de trancher entre les différentes voies possibles de dégradation (cf. Figure 4-52, Figure 4-53 et Figure 4-54). Cependant, puisque l'acide glyoxylique s'oxyde partiellement en acide oxalique et que l'on observe une faible production tardive d'acide oxalique (3,5 µM à comparer aux 14 µM initiaux d'acide glycolique, cf. Figure 4-52), on peut penser que la voie (c) résultant directement en la formation d'acide oxalique n'est pas privilégiée. Cette production minoritaire directe d'acide oxalique serait en accord avec les énergies de liaison mises en jeu dans les différentes voies. En effet il est plus facile de rompre une liaison C-C (voie (a)) qu'une liaison C-O (voie (b)) elle-même plus faible qu'une liaison C-H (voie (c)).

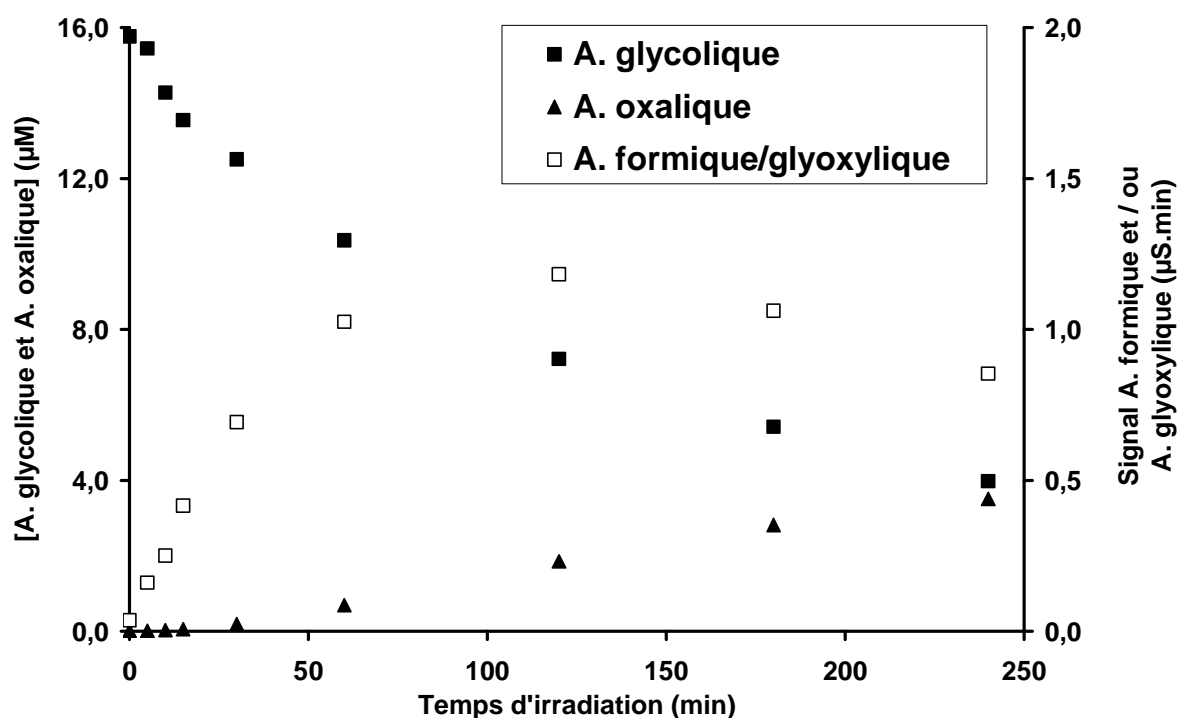


Figure 4-52 : Evolution des concentrations de l'acide glycolique et de l'acide oxalique, et du signal de l'acide formique et/ou glyoxylique (coélués) au cours de l'irradiation de l'acide glycolique en présence de H₂O₂.

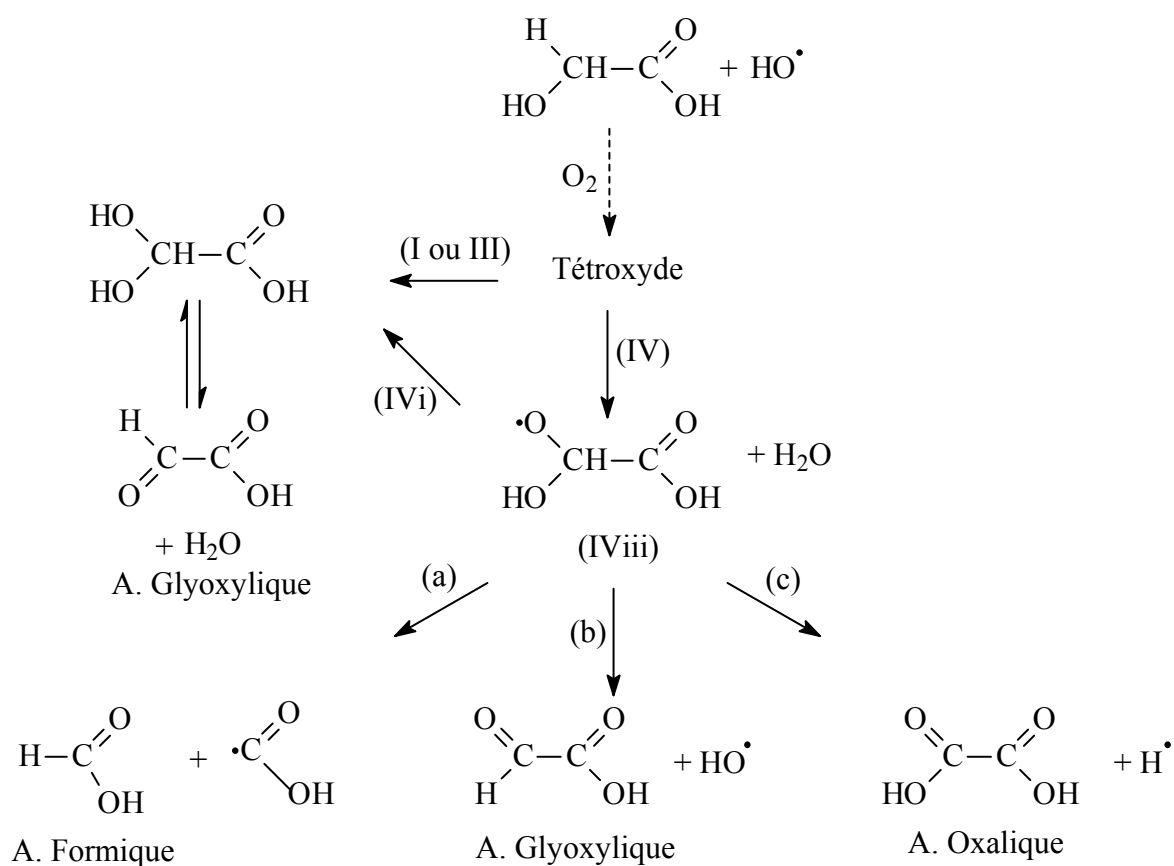


Figure 4-53 : Voies de dégradation de l'acide glycolique par attaque des radicaux HO•.

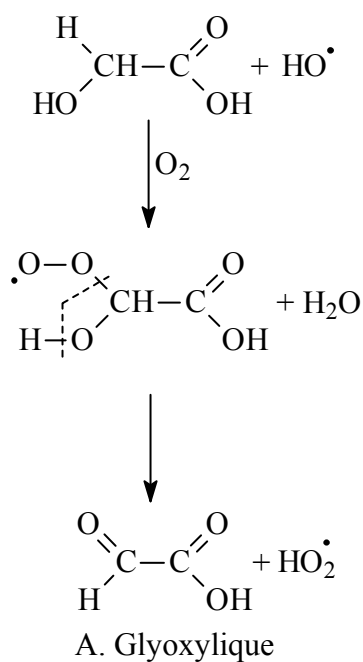


Figure 4-54 : Voie de dégradation de l'acide glycolique par attaque des radicaux HO• proposée par Karpel Vel Leitner and Doré, 1997.

Dans la littérature les trois produits sont mentionnés et un effet de pH semble diriger leurs productions relatives (Karpel Vel Leitner and Doré, 1997). Dans les conditions les plus proches des nôtres, après 240 minutes d'irradiation la concentration d'acide oxalique représente moins de la moitié de l'acide glycolique initial mais elle est due pour une part très importante à l'oxydation de l'acide glyoxylique. En effet, comme nous l'avons montré précédemment, l'acide glyoxylique est très réactif vis-à-vis du radical HO^\bullet et la cinétique d'apparition de l'acide oxalique laisse penser qu'il est un produit secondaire lors de la dégradation de l'acide glyoxylique. Cependant, du fait de notre analyse par chromatographie ionique il est difficile de savoir la proportion d'acide glyoxylique et d'acide formique au cours de la dégradation.

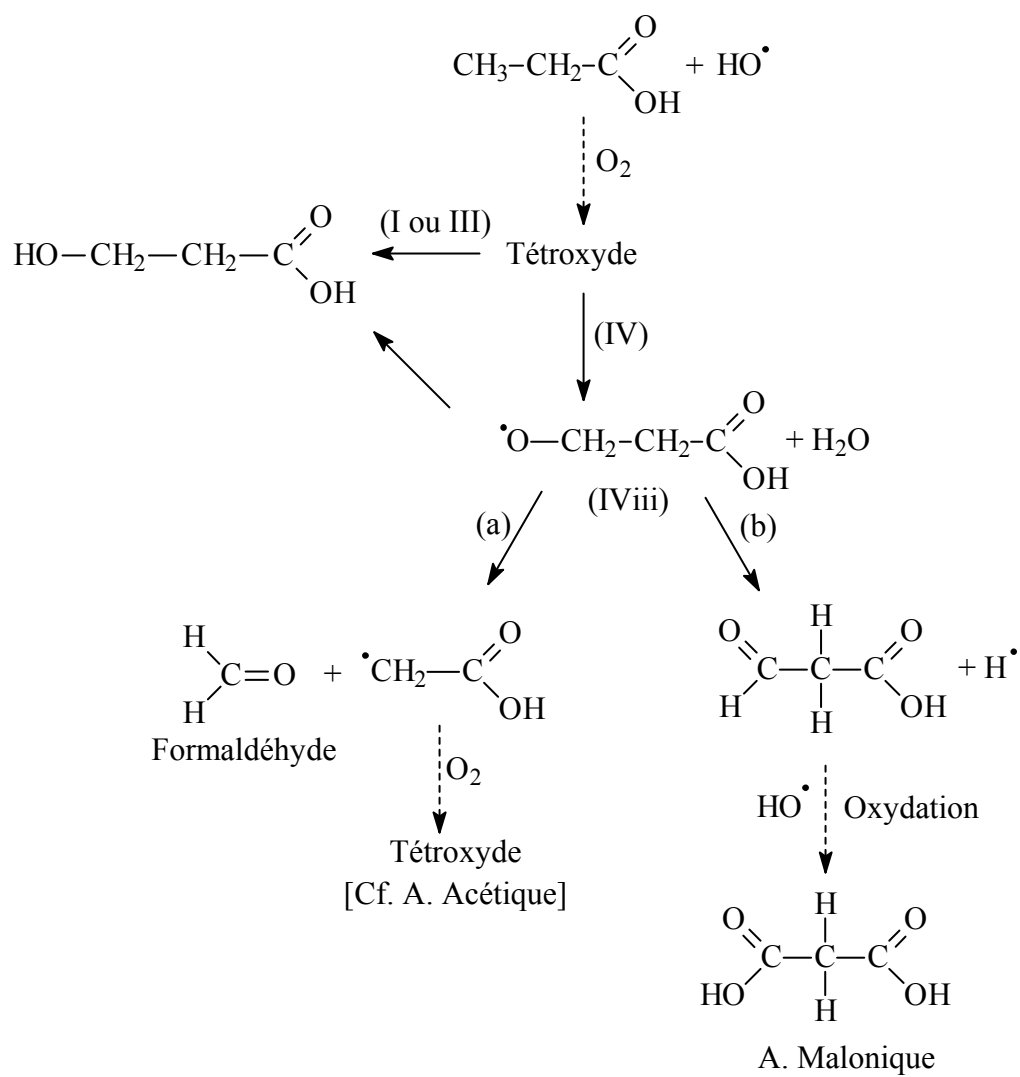
4.5.1.2.11 Acide propionique (monocarboxylique en C_3)

Conditions initiales : $\text{C}_0 = 9 \mu\text{M}$ – $\text{pH} = 5,6$ – Durée = 4 heures

A ce pH : 15% sous forme moléculaire – 85% sous forme anionique

Dans nos conditions expérimentales l'acide propionique se dégrade rapidement avec un temps de demi-vie de l'ordre de 1,4 heures et l'attaque par les radicaux HO^\bullet résulte en la formation d'acide malonique, d'acides glyoxylique et/ou formique coélués, d'acide oxalique et d'acide acétique. Les proportions relatives de ces différentes voies montrent une large dominance de la voie résultant en la formation d'acide acétique ($4,5 \mu\text{M}$ au bout de 4 heures d'irradiation) suivie par celle de l'acide malonique ($2,3 \mu\text{M}$ au bout de 4 heures d'irradiation).

L'étude de la stabilité des radicaux nous montre que la deuxième voie par attaque d'un carbone secondaire (cf. Figure 4-56) est plus probable que la première voie par attaque d'un carbone primaire (cf. Figure 4-55). Ensuite la β -fragmentation la plus favorable est celle de la liaison C-C (a) avec formation d'acétaldéhyde qui, on l'a vu précédemment, s'oxyde en acide acétique. La formation de concentrations conséquentes d'acide malonique est plus surprenante puisque d'une part la première voie (cf. Figure 4-55) n'est pas favorisée et que d'autre part la β -fragmentation (a) par rupture d'une liaison C-C devrait être plus favorable que la (b) par rupture d'une liaison C-H qui conduit à la formation d'acide malonique. Cependant la formation d'acide malonique pourrait aussi provenir d'une recombinaison des radicaux $^\bullet\text{CH}_2\text{COOH}$ et $^\bullet\text{COOH}$ produits par les β -fragmentations (a) des deux voies de dégradation proposées. Il est toutefois difficile de savoir si cette recombinaison est significative.


 Figure 4-55 : Premières voies de dégradation de l'acide propionique par attaque des radicaux HO[•].

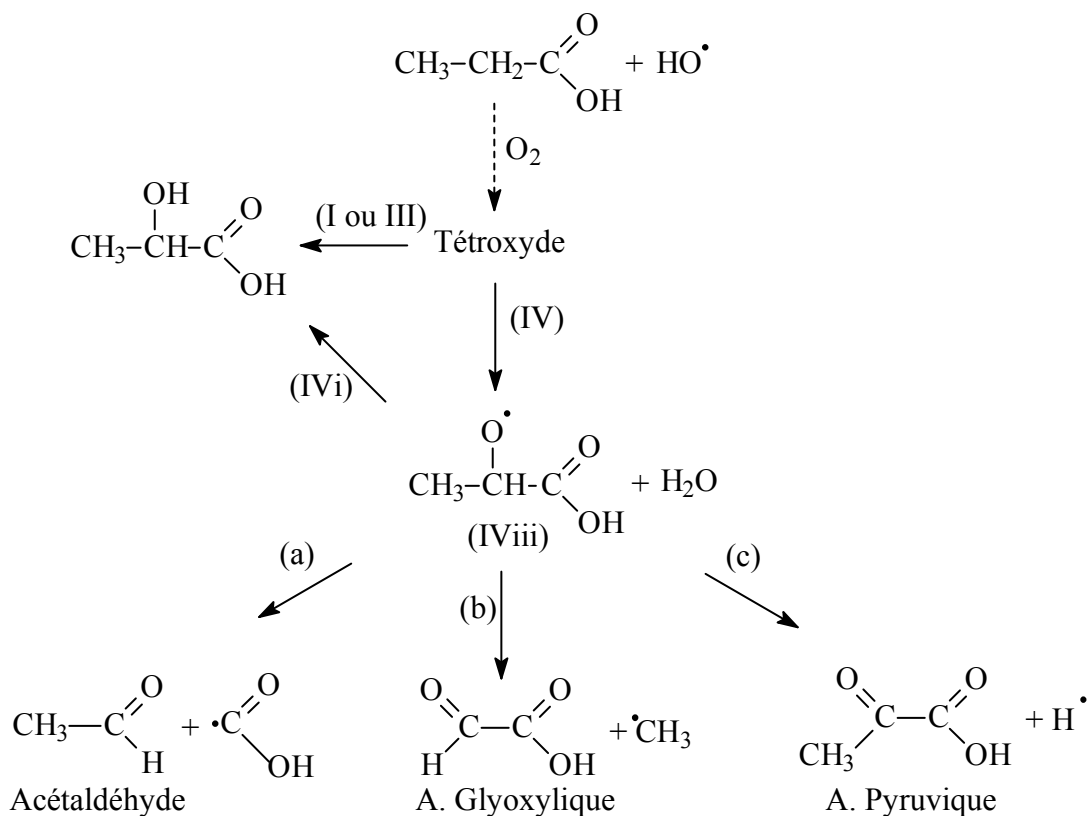


Figure 4-56 : Deuxièmes voies de dégradation de l'acide propionique par attaque des radicaux HO•.

4.5.1.2.12 Acide lactique (monocarboxylique en C₃)

Conditions initiales : C₀ = 11 μM – pH = 5,2 – Durée = 4 heures

A ce pH : 5% sous forme moléculaire – 95% sous forme anionique

Dans nos conditions expérimentales l'acide lactique se dégrade rapidement avec un temps de demi-vie de l'ordre de 1,8 heures et l'attaque par les radicaux HO• résulte en la formation d'acide acétique et d'acides formique et/ou glyoxylique coélués. L'acide acétique est présent en concentration la plus importante (5,2 μM au bout de 4 heures d'irradiation), il représente la moitié de l'acide lactique dégradé.

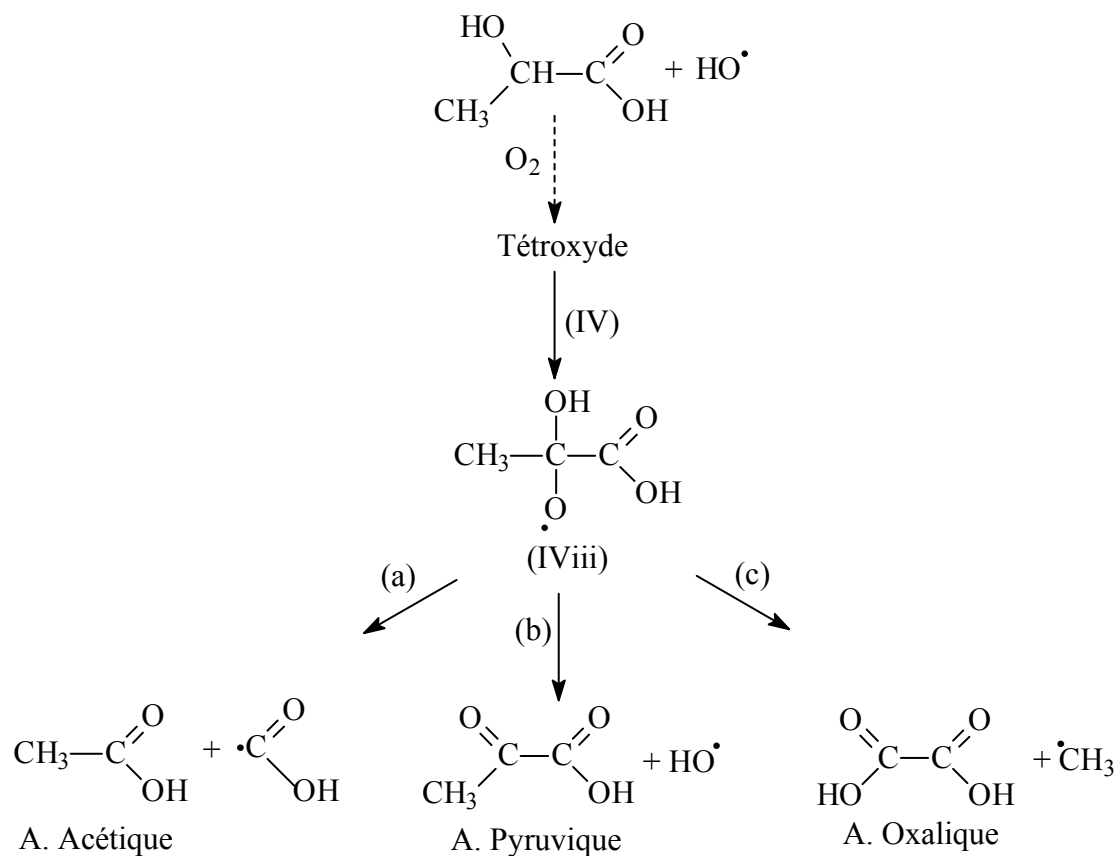
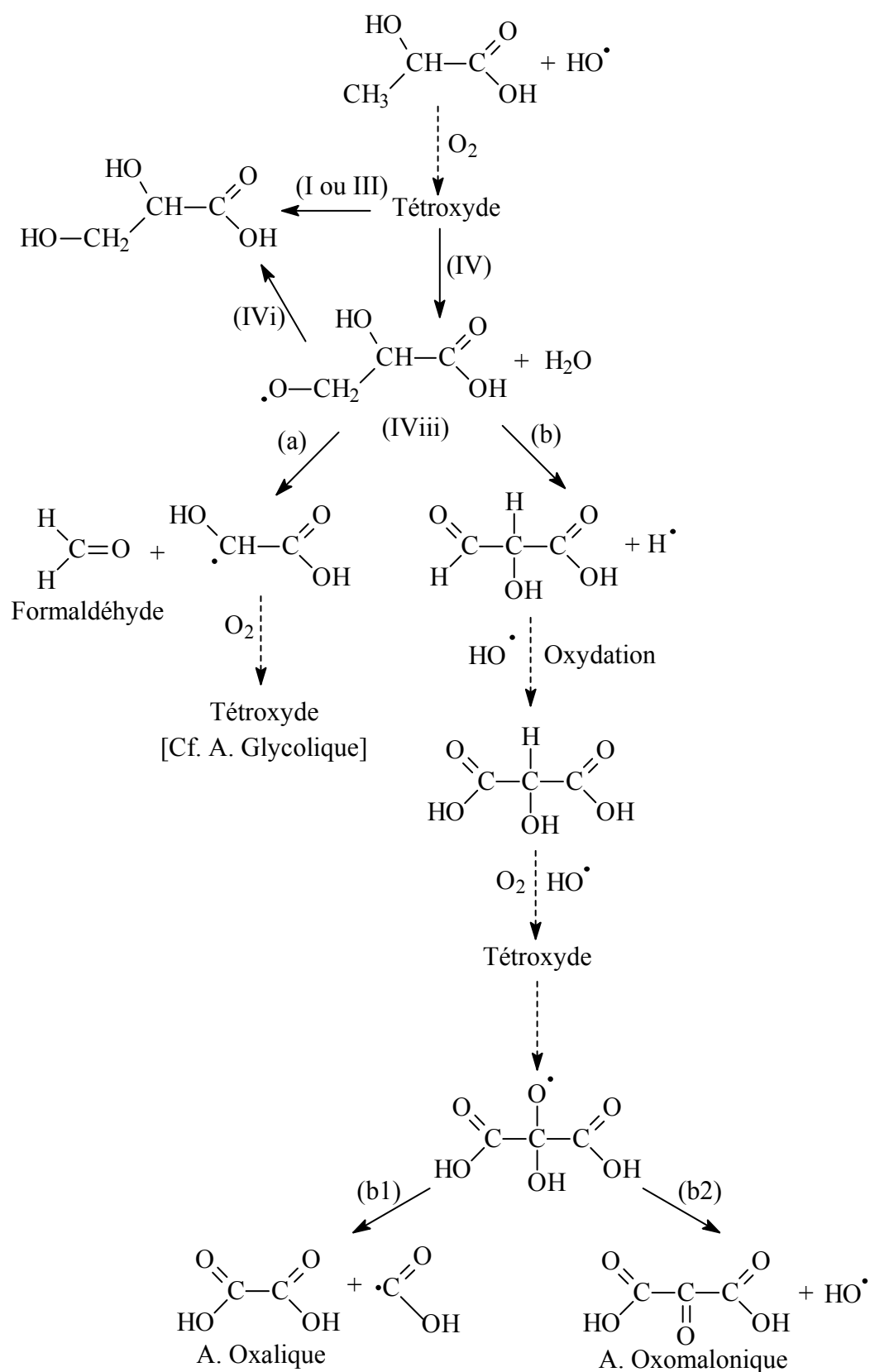


Figure 4-57 : Deuxième voie de dégradation de l'acide lactique par attaque des radicaux HO[•].

Si l'on tient compte des énergies de liaison la deuxième voie par attaque d'un carbone tertiaire (cf. Figure 4-57) est plus probable que la première voie par attaque d'un carbone primaire (cf. Figure 4-58). De plus dans le cas de la deuxième voie la rupture d'une liaison C-C (a) est plus favorable que les deux autres proposées et explique donc la formation importante d'acide acétique.


 Figure 4-58 : Premières voies de dégradation de l'acide lactique par attaque des radicaux HO^\bullet .

4.5.1.2.13 Acide pyruvique (monocarboxylique en C₃)

Conditions initiales (photolyse directe) : C₀ = 11 μM – pH = 5,9 – Durée = 4 heures

A ce pH : 100% sous forme anionique

Dans nos conditions expérimentales l'acide pyruvique présente une photolyse directe (cf. Figure 4-60) résultant en la formation d'acide acétique avec un temps de demi-vie de l'ordre de 16 heures. Sa mise en contact en l'absence de lumière avec du H₂O₂ provoque rapidement sa disparition avec un temps de vie inférieur à 0,5 heure entraînant une formation d'acide acétique. Cette transformation est équimolaire et pourrait être assimilée à une décarboxylation oxydative avec production de CO₂ telle que l'on en observe dans la glycolyse oxydative qui se déroule dans les cellules vivantes. Dans ce cas cette réaction est catalysée par une enzyme, la pyruvate déshydrogénase et donne l'acétylcoenzyme A puis l'acide acétique. Un mécanisme est proposé par Stefan and Bolton, 1999 (cf. Figure 4-59).

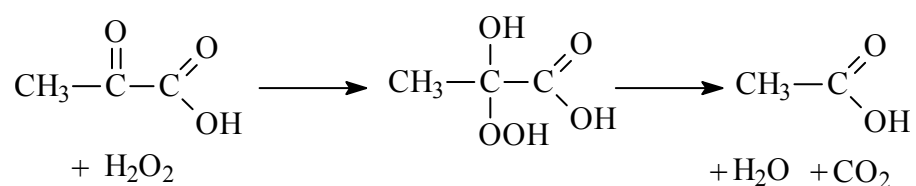


Figure 4-59 : Mécanisme de dégradation de l'acide pyruvique par réaction avec le H₂O₂ d'après Stefan and Bolton, 1999

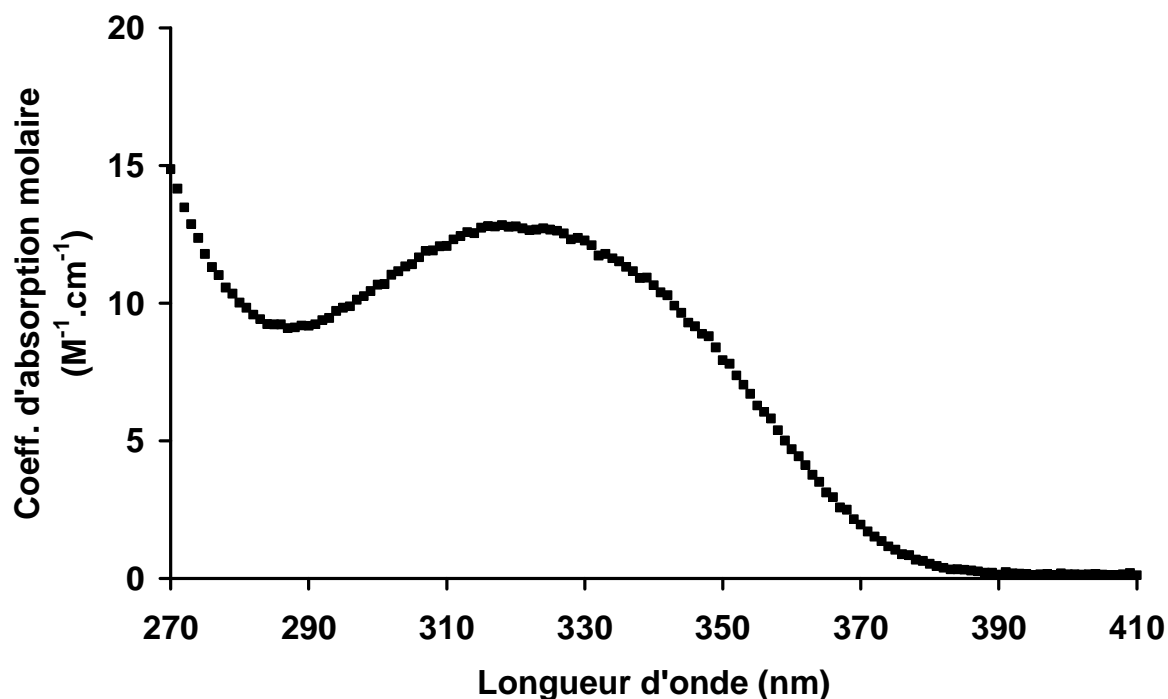


Figure 4-60 : Evolution du coefficient d'absorption molaire ϵ ($M^{-1}.cm^{-1}$) de l'acide pyruvique.

4.5.1.2.14 Acide malonique (dicarboxylique en C_3)

Conditions initiales : $C_0 = 11 \mu M$ – pH = 5,0 – Durée = 4 heures

A ce pH : 82% sous forme mono anionique – 18% sous forme di anionique

Dans nos conditions expérimentales l'acide malonique ne se dégrade pas rapidement avec un temps de demi-vie de l'ordre de 24 heures et une attaque des radicaux HO^\bullet résultant en la formation d'acide glyoxylique et d'acide oxalique (cf. Figure 4-61). Dans ce cas il n'y a pas d'ambiguïté entre les acides glyoxylique et formique coélués, en effet l'acide formique n'est pas formé au début par le mécanisme de dégradation proposé (cf. Figure 4-62). La voie de dégradation produisant l'acide glyoxylique semble représenter près de 90% de l'acide malonique dégradé ce qui montre que la β -fragmentation (a) est très majoritaire, cependant la formation d'acide oxomalonique est envisageable même si ce composé n'est pas identifié par notre système de chromatographie ionique.

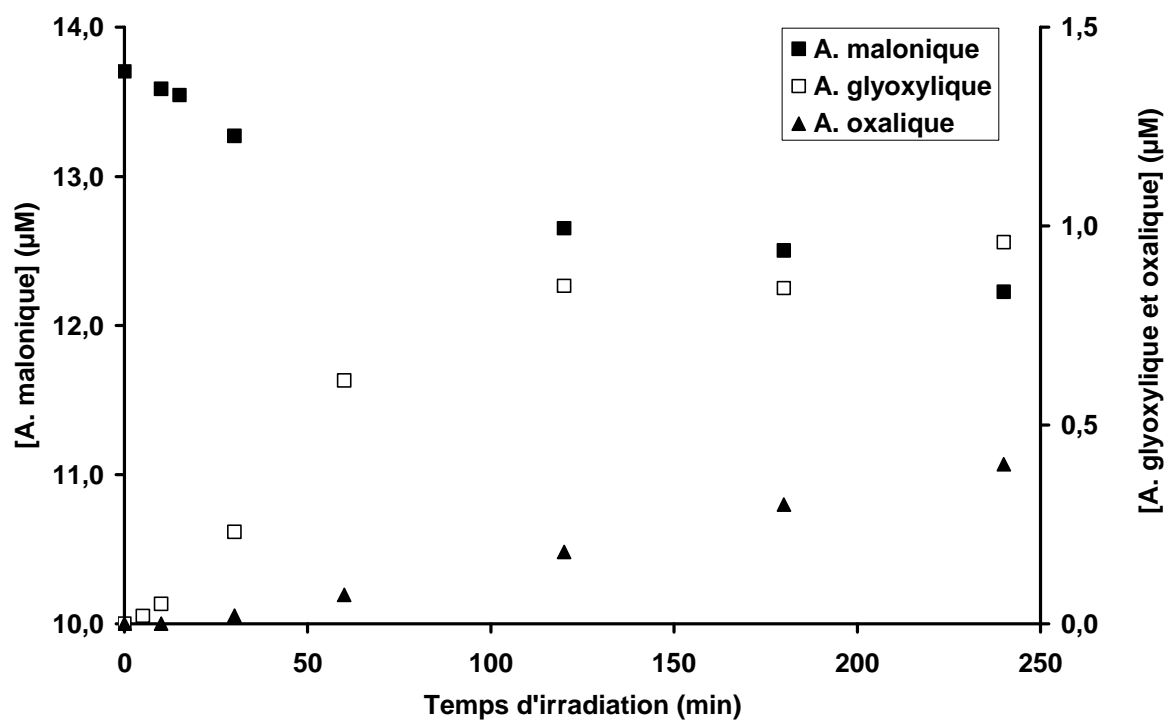


Figure 4-61 : Evolutions des concentrations en acide malonique, acide glyoxylique et acide oxalique au cours de l'irradiation de l'acide malonique en présence de H_2O_2 .

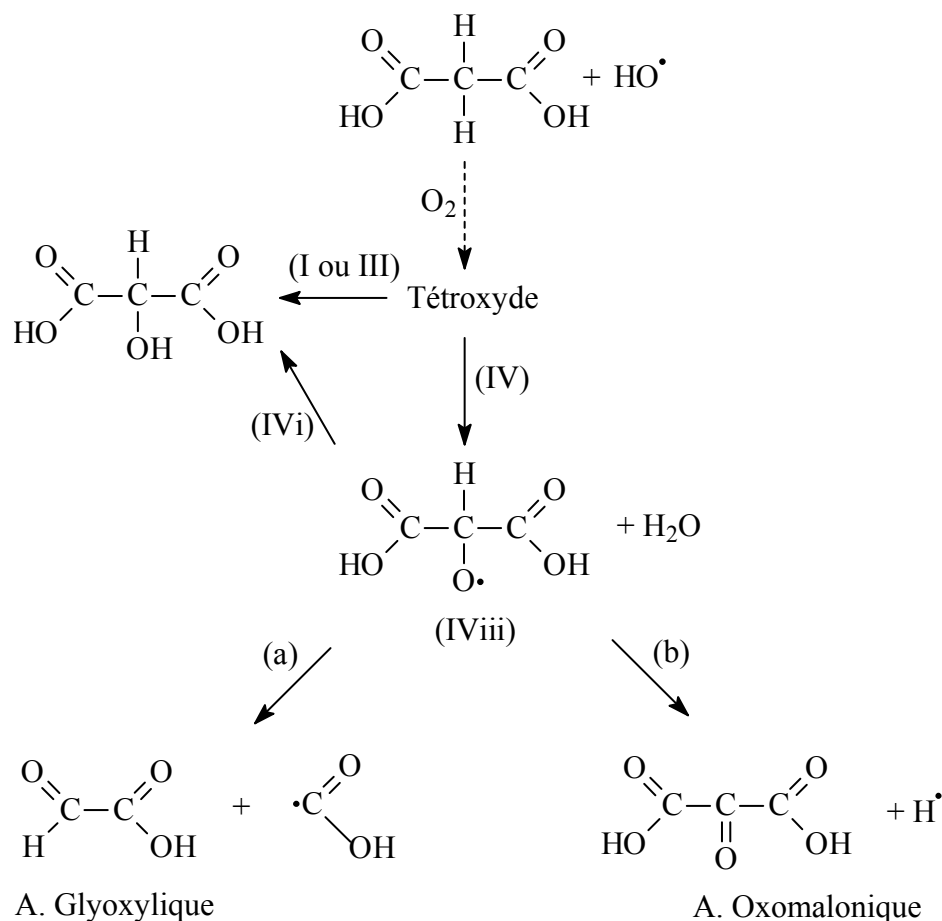


Figure 4-62 : Voies de dégradation de l'acide malonique par attaque des radicaux HO^\bullet .

La prédominance de formation de l'acide glyoxylique est tout à fait en accord avec les énergies de liaison. La liaison C-C rompue pour obtenir l'acide glyoxylique a une énergie plus faible que la liaison C-H que l'on doit couper pour obtenir l'acide oxomalonique.

4.5.1.2.15 Acide succinique (dicarboxylique en C_4)

Conditions initiales : $\text{C}_0 = 8 \mu\text{M}$ – pH = n.d. – Durée = 4 heures

Dans nos conditions expérimentales l'acide succinique se dégrade assez rapidement avec un temps de demi-vie de l'ordre de 4,6 heures et une attaque par les radicaux HO^\bullet résultant en la formation d'acide malonique, d'acide oxalique et d'acides formique et/ou glyoxylique coélués (cf. Figure 4-63). La voie par formation d'acide malonique représente 2/3 de l'acide succinique dégradé.

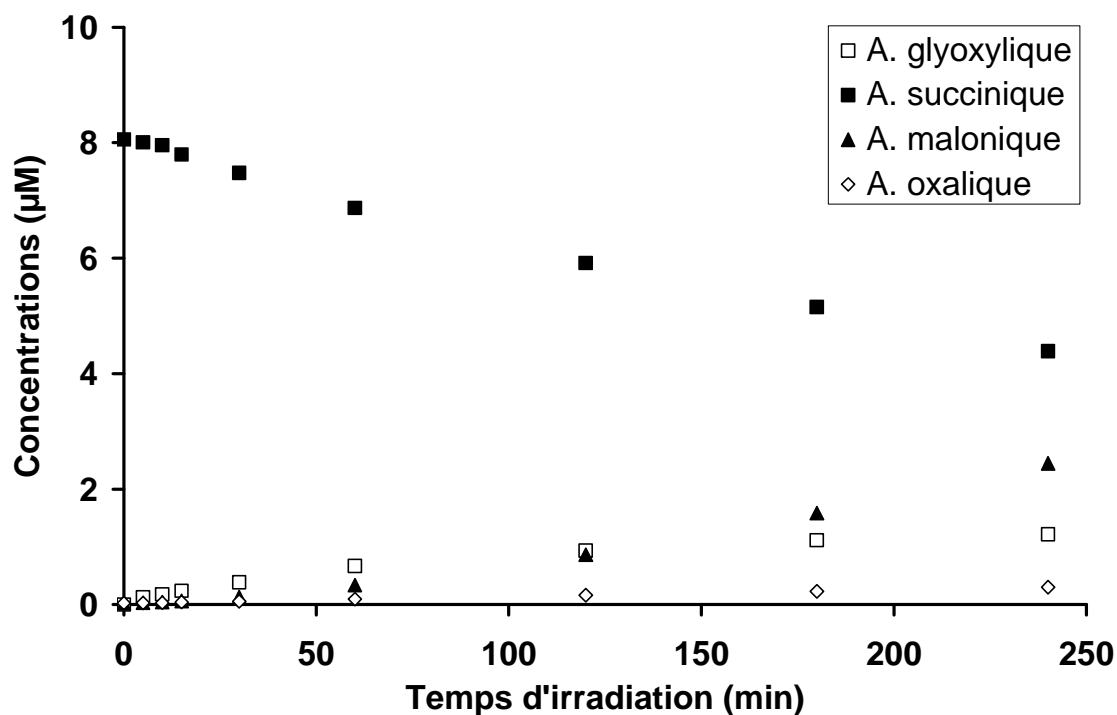


Figure 4-63 : Evolutions des concentrations en acide glyoxylique, acide succinique, acide malonique et acide oxalique au cours de l'irradiation de l'acide succinique en présence de H_2O_2 .

Le fait que le schéma de dégradation (cf. Figure 4-64) ne montre pas de voie résultant directement en la formation d'acide oxalique et le fait que la perte en carbone soit très faible (au bout de 4 heures d'irradiation on retrouve plus de 80% du carbone parmi les composés identifiés par chromatographie ionique) semblent indiquer qu'une grande partie du pic correspondant aux acides formique et glyoxylique coélués soit réellement de l'acide glyoxylique.

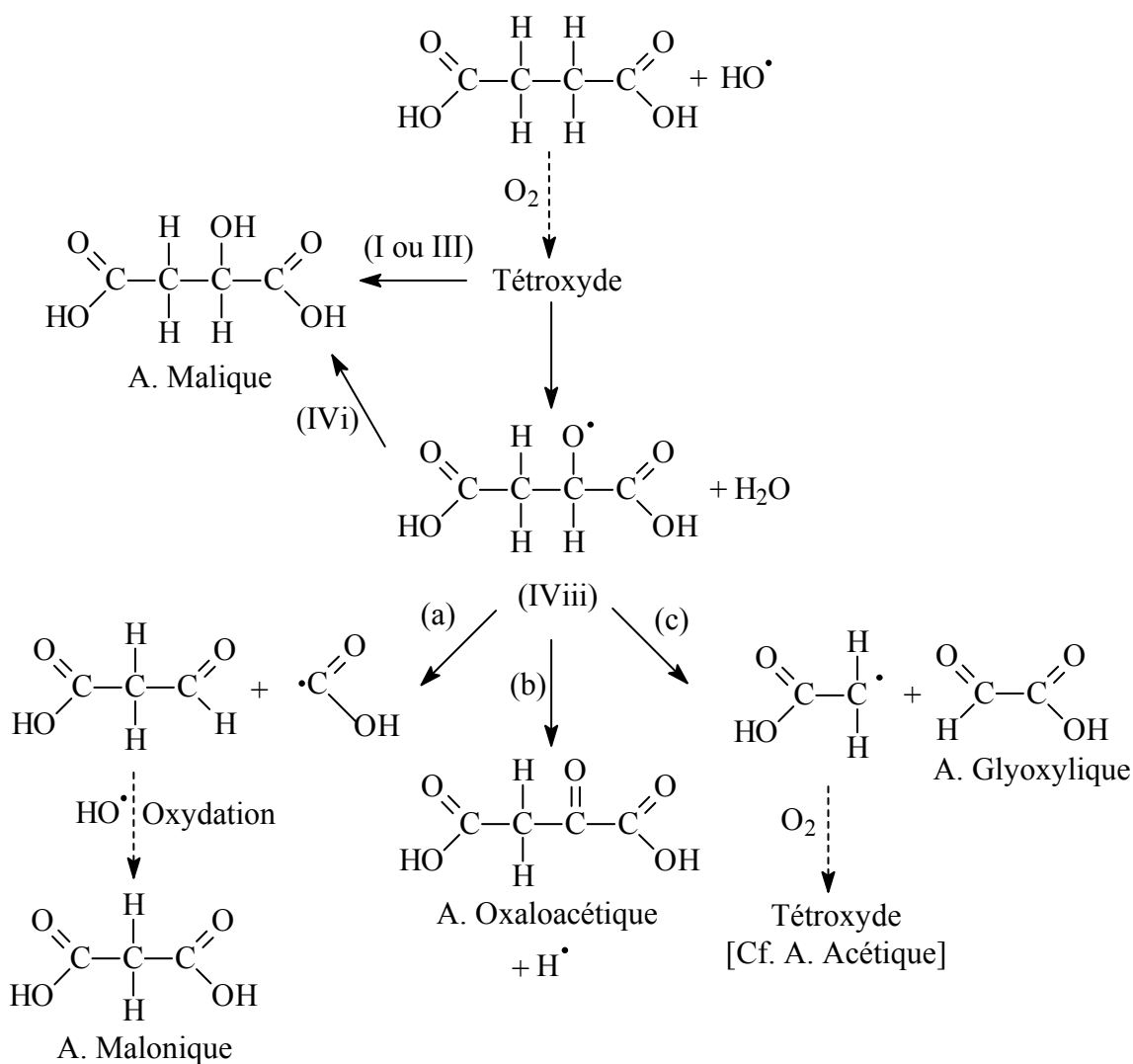


Figure 4-64 : Voies de dégradation de l'acide succinique par attaque des radicaux HO^\bullet .

D'après les résultats que nous avons obtenu en chromatographie ionique, la β -fragmentation (a) est prépondérante. Ceci est en accord avec les énergies des liaisons rompues et la stabilité des radicaux formés par β -fragmentations. En effet le radical tertiaire est plus stable que le radical primaire issu de la voie (c).

4.5.1.2.16 Acide malique (dicarboxylique en C_4)

Conditions initiales : $\text{C}_0 = 6,4 \mu\text{M}$ – $\text{pH} = 5,5$ – Durée = 4 heures

A ce pH : 29% sous forme mono anionique – 71% sous forme di anionique

Dans nos conditions expérimentales l'acide malique se dégrade rapidement avec un temps de demi-vie de l'ordre de 2,3 heures et une attaque par les radicaux HO^\bullet résultant en la formation exclusive d'acide malonique.

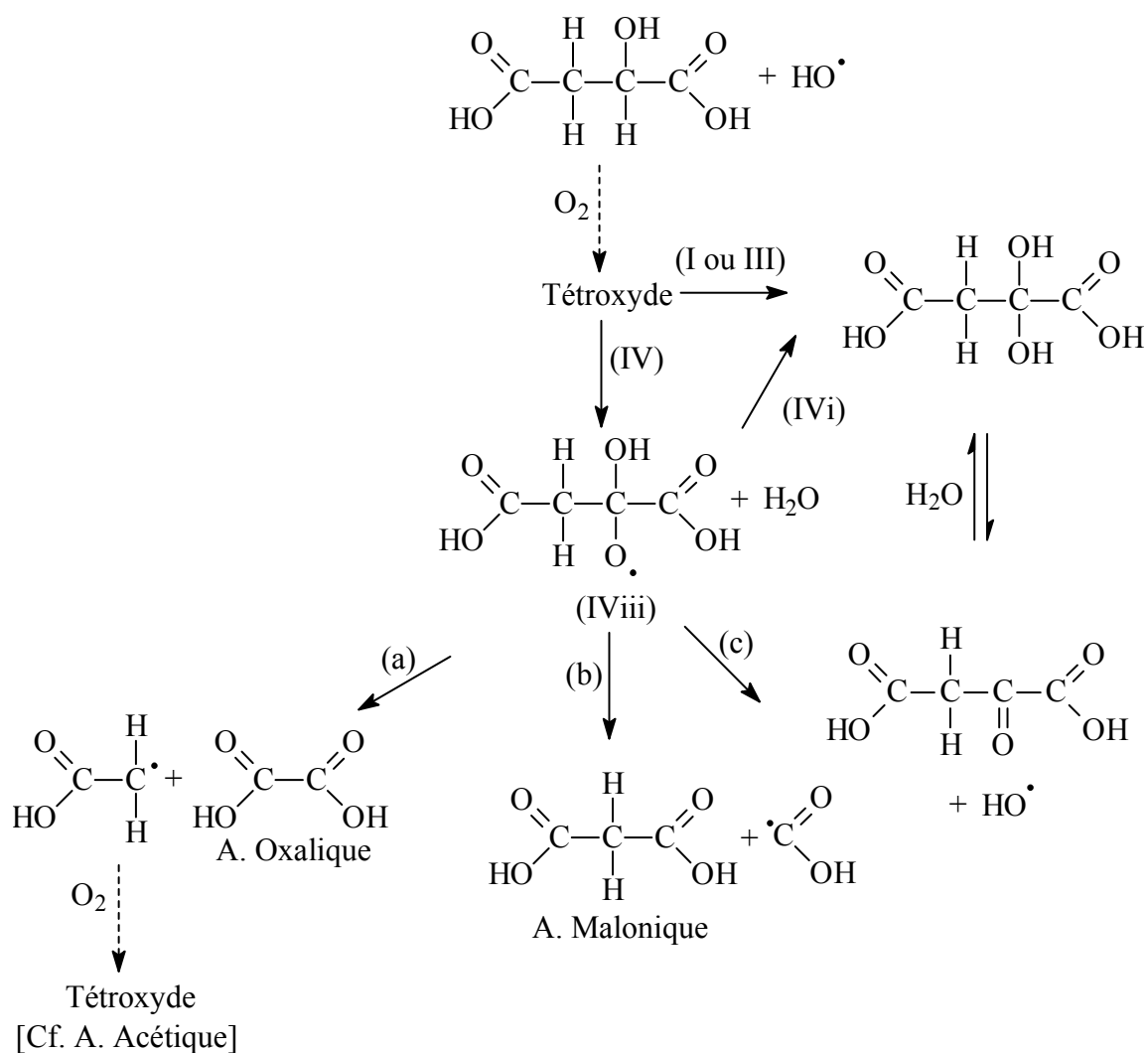


Figure 4-65 : Premières voies de dégradation de l'acide malique par attaque des radicaux HO^\bullet .

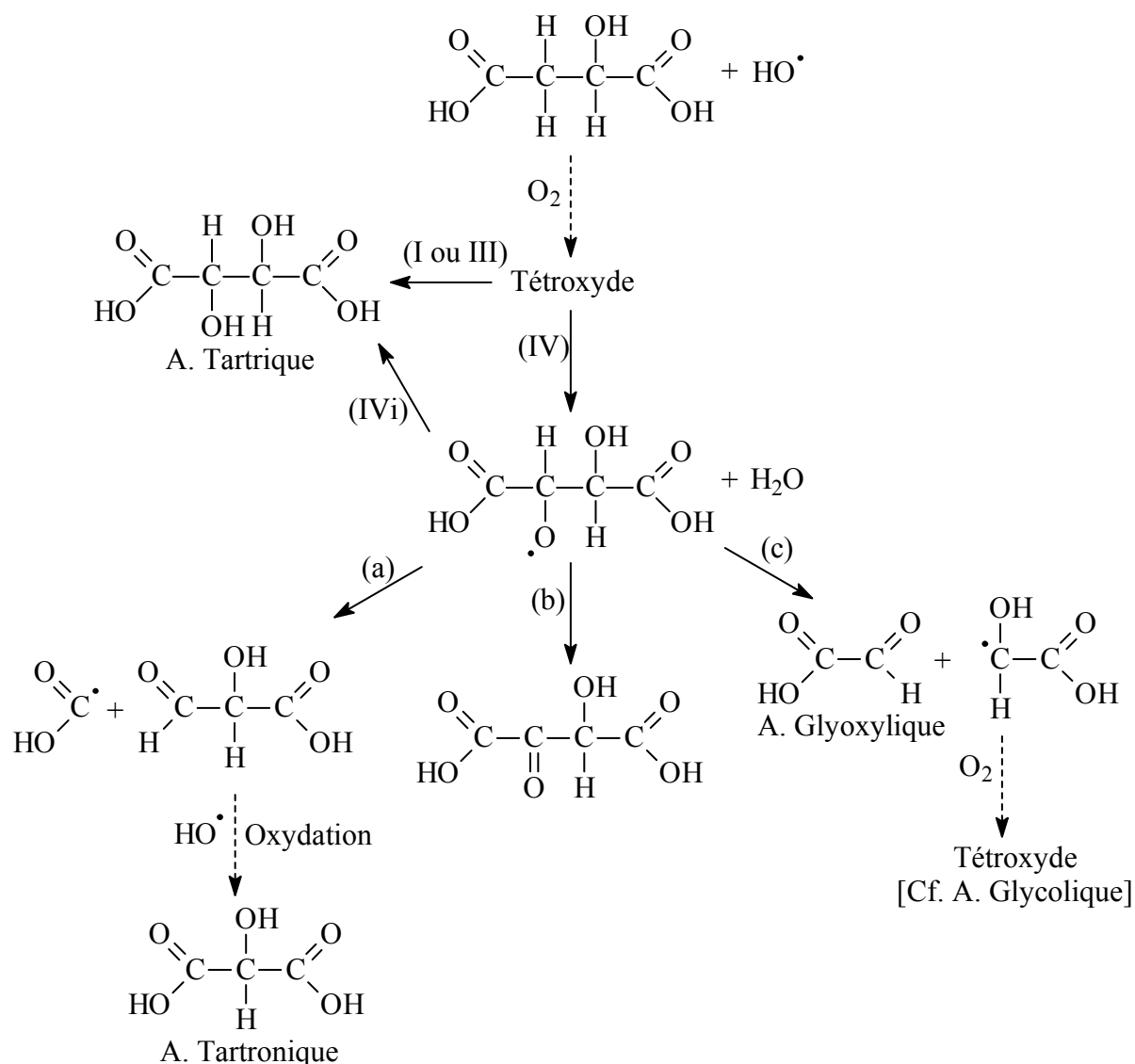


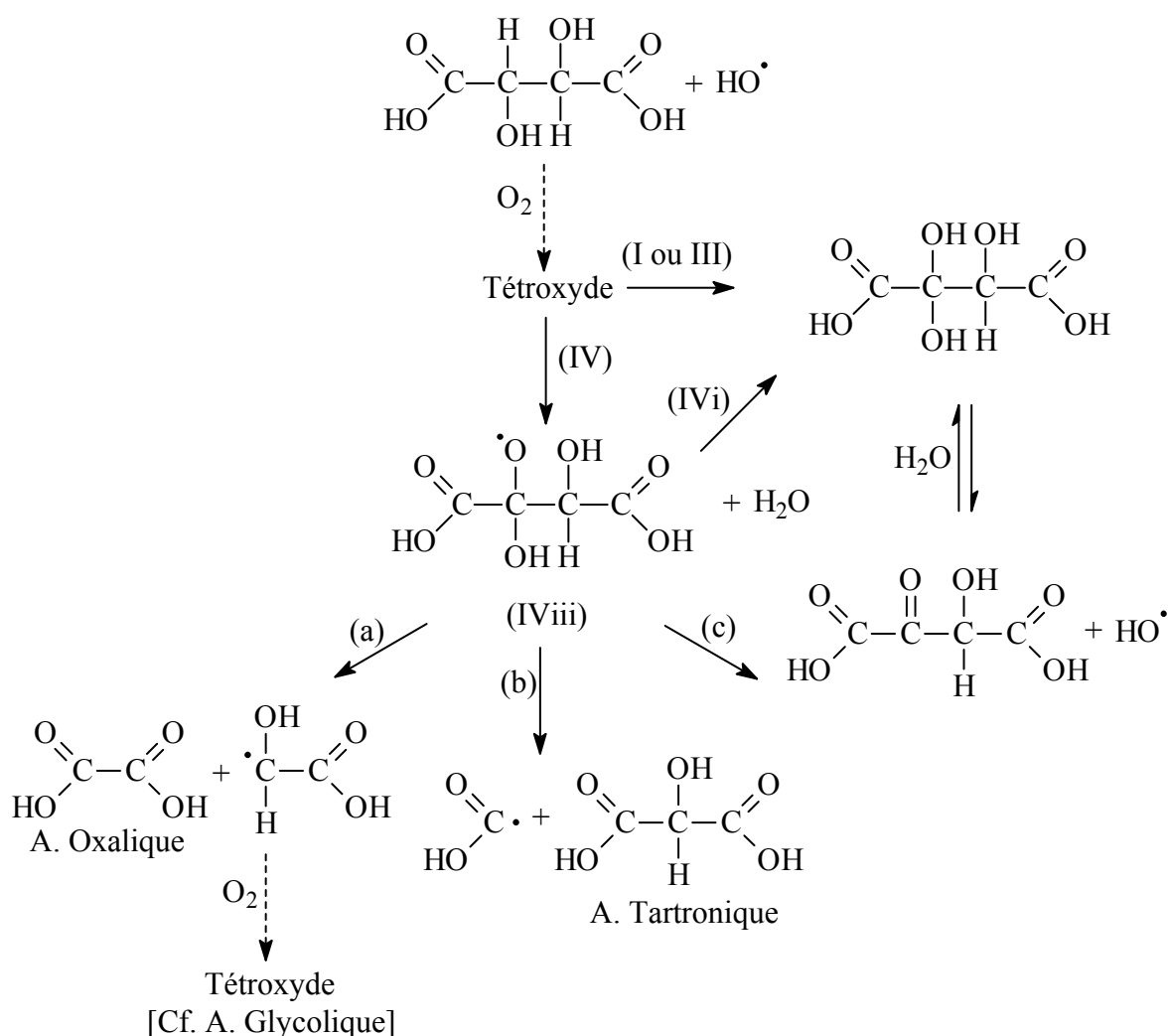
Figure 4-66 : Deuxièmes voies de dégradation de l'acide malique par attaque des radicaux HO•.

Par chromatographie ionique nous n'avons mesuré que de l'acide malonique (presque 100% de l'acide malique dégradé) et des traces d'acide oxalique ce qui montre que la première voie de dégradation par attaque d'un carbone tertiaire (cf. Figure 4-65) est favorisée par rapport à la deuxième voie par attaque d'un carbone secondaire (cf. Figure 4-66). De plus, la prédominance de l'acide malonique dans la première voie (cf. Figure 4-65) est en accord avec la stabilité des radicaux formés par β -fragmentation. En effet la β -fragmentation (b) donne un radical tertiaire beaucoup plus stable que le radical primaire obtenu par la β -fragmentation (a).

4.5.1.2.17 Acide tartrique (dicarboxylique en C_4)

 Conditions initiales : $C_0 = 7 \mu\text{M}$ – pH = 5,5 – Durée = 4 heures

Dans nos conditions expérimentales l'acide tartrique se dégrade rapidement avec un temps de demi-vie de l'ordre de 1,8 heures. L'attaque par les radicaux HO^\bullet conduit à la formation d'acide oxalique et de traces d'acides formique et/ou glyoxylique coélués. Cependant dans ce cas l'acide oxalique ne représente que 1/4 de l'acide tartrique disparu. Cela semble indiquer la présence d'autres composés non mesurés tels que l'acide tartronique, produit par la β -fragmentation la plus favorable (cf. (b) de la Figure 4-67) ou le composé céto-diacide également non mesuré par notre système de chromatographie ionique.


 Figure 4-67 : Voies de dégradation de l'acide tartrique par attaque des radicaux HO^\bullet .

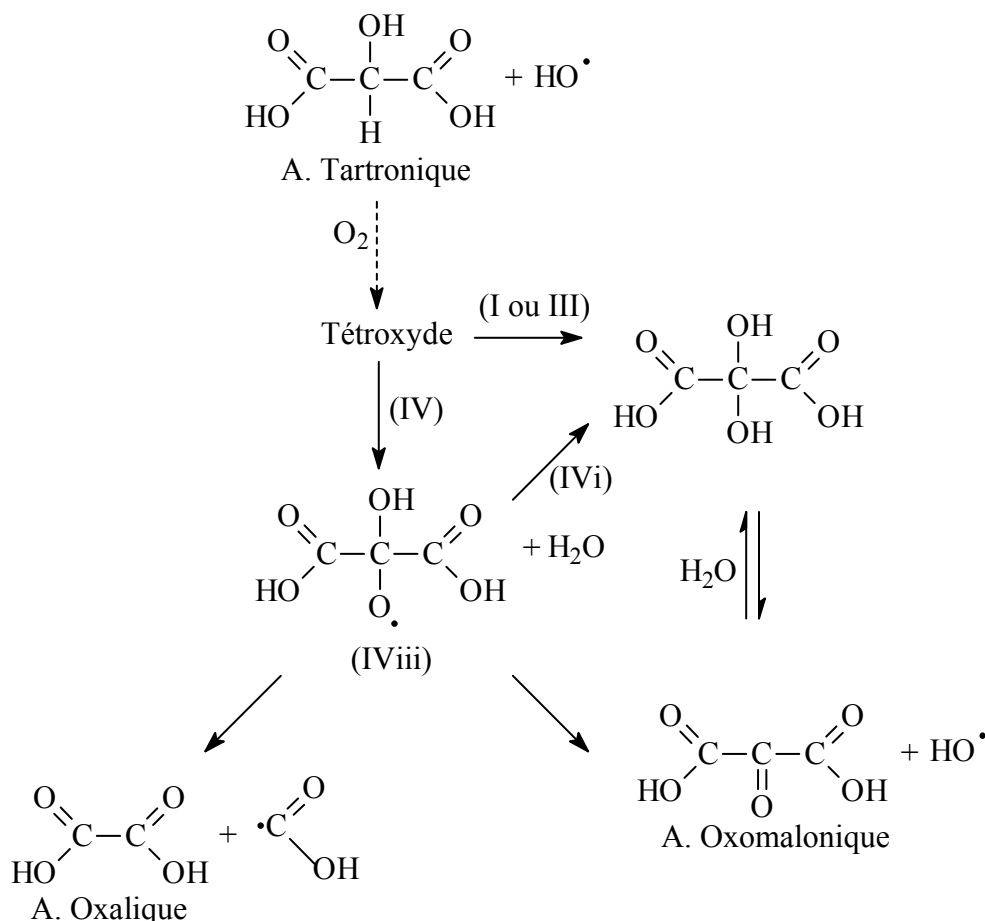


Figure 4-68 : Voies de dégradation de l'acide tartrique par attaque des radicaux HO•.

Le schéma de dégradation de l'acide tartrique (intermédiaire réactionnel majoritaire probable de l'acide tartrique) conduit à la formation d'acide oxalique détecté dans le milieu réactionnel (cf. Figure 4-68). Cet acide oxalique est donc susceptible de provenir à la fois d'une seconde attaque d'un HO• sur l'acide tartrique ou de la dégradation du composé initial, l'acide tartrique.

4.5.1.2.18 Acide glutarique (dicarboxylique en C₅)

Conditions initiales : C₀ = 7 μM – pH = 5,1 – Durée = 8 heures

A ce pH : 10% sous forme moléculaire – 60% sous forme mono anionique – 30% sous forme di anionique

Dans nos conditions expérimentales l'acide glutarique se dégrade rapidement avec un temps de demi-vie de l'ordre de 1,9 heure. L'attaque par les radicaux HO• conduit à la formation d'acide malonique et d'acide succinique (cf. Figure 4-69).

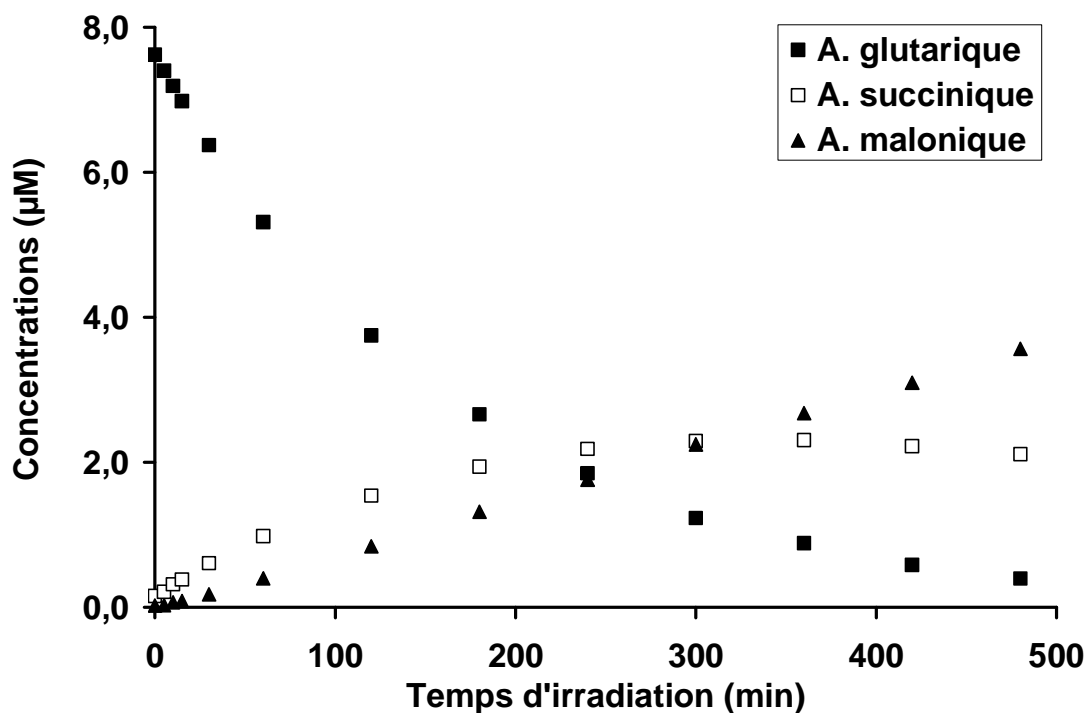


Figure 4-69 : Evolution des concentrations en acide glutarique, acide succinique et acide malonique au cours de l'irradiation de l'acide glutarique en présence de H_2O_2 .

L'acide glutarique possède deux voies de dégradation (cf. Figure 4-70 et Figure 4-71). Il est difficile de savoir quelles voies privilégier mais l'acide succinique représente presque la moitié de l'acide glutarique dégradé alors que l'acide malonique contribue à hauteur de 1/4. Vu que le temps de demi-vie de l'acide succinique est bien plus important que celui de l'acide glutarique il est très probable que l'acide malonique observé résulte en partie d'une formation directe et non pas exclusivement d'une dégradation secondaire de l'acide succinique.

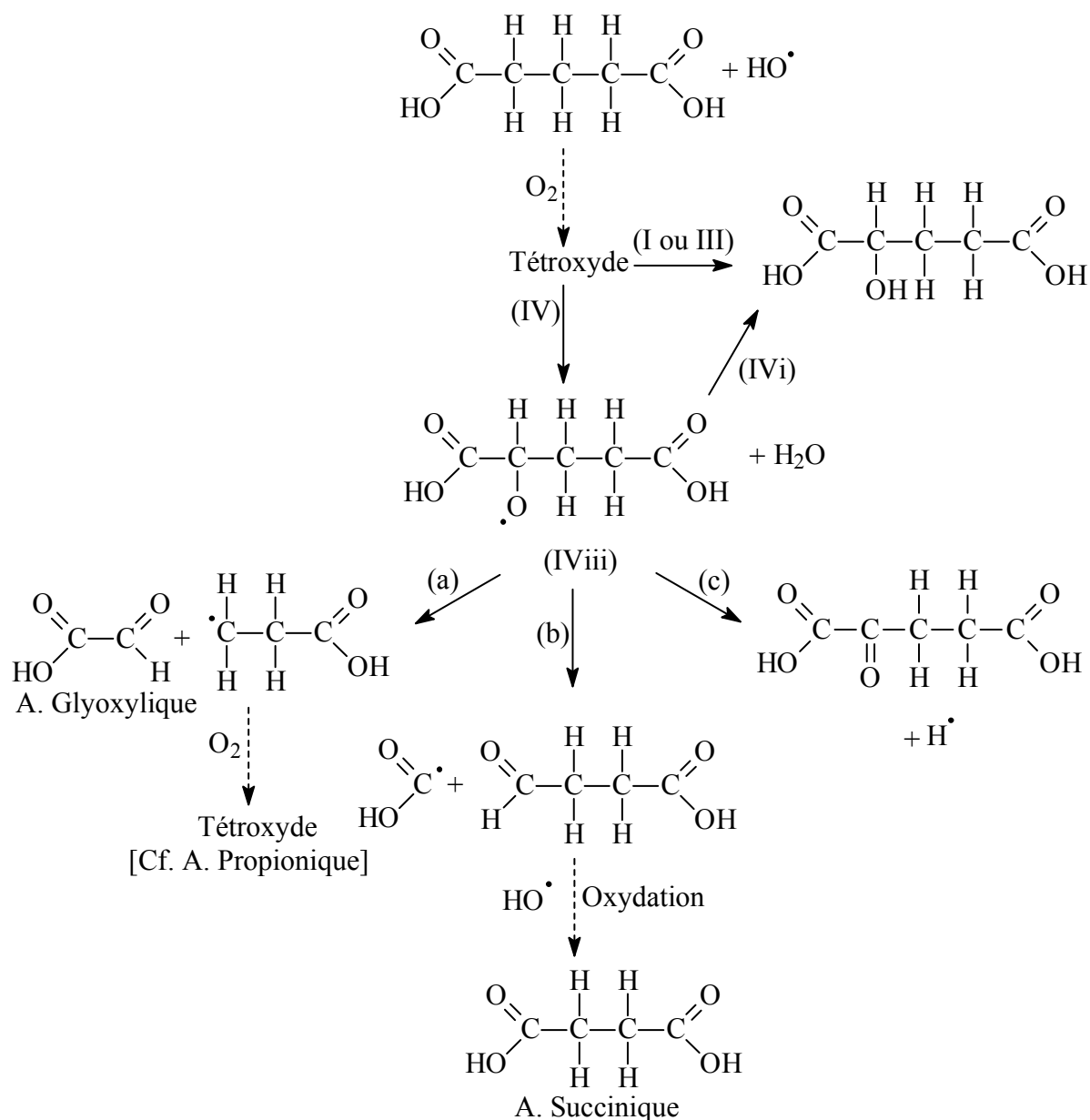


Figure 4-71 : Deuxièmes voies de dégradation de l'acide glutarique par attaque des radicaux HO^\bullet .

La deuxième voie de dégradation (cf. Figure 4-71) est plus probable du fait que 4 atomes d'hydrogène conduisent à cette dégradation alors que dans le cas de la première voie (cf. Figure 4-70) seulement deux atomes d'hydrogène peuvent être mis en jeu. De plus, la bande C-H en α d'un groupement acide est plus faible en énergie que la bande C-H en β qui correspond à la première voie (Ervens *et al.*, 2004(a)). Ceci est confirmé par la prépondérance de l'acide succinique comme produit de dégradation. De plus ce dernier est formé par coupure d'une liaison C-C conduisant à la formation d'un radical tertiaire, β -fragmentation la plus favorable.

4.5.1.2.19 Bilan des voies de dégradation

Les différents composés étudiés ont montré des réactivités différentes vis-à-vis du radical HO• photogénéré à partir de H₂O₂. Les temps de demi-vie obtenus dans nos conditions expérimentales ainsi que les principaux produits de dégradation sont présentés dans le Tableau 4-11 suivant :

Composés	pH	t _{1/2} (h)	Produit(s) majoritaire(s)
A. formique	n.d.	0,4	CO ₂ A. oxalique (1/100)
A. acétique	5,4	>> 8,0	?
A. oxalique	5,1	15,5 (HO•) 95,0 (photolyse)	CO ₂
Formaldéhyde	5,3	1,3 (estimation)	A. formique
Acétaldéhyde	5,7	1,5 à 2,5 (estimation)	A. acétique CO ₂
A. glyoxylique	5,0	0,7	A. oxalique (1/3) CO ₂ (2/3)
A. glycolique	5,2	1,9	A. formique A. glyoxylique
A. propionique	5,6	1,4	A. malonique (1/4) A. acétique (2/3)
A. lactique	5,2	1,8	A. acétique (1/2) A. formique (1/2)
A. pyruvique	5,9	16,0 (photolyse) << 0,5 (oxydation par H ₂ O ₂)	A. acétique
A. malonique	5,0	24	A. glyoxylique (9/10)
A. succinique	n.d.	4,6	A. malonique (2/3) A. glyoxylique (1/3)
A. malique	5,5	2,3	A. malonique (1/1)
A. tartrique	5,5	1,8	A. oxalique (1/4)
A. glutarique	5,1	1,9	A. succinique (4/10) A. malonique (1/4)

Tableau 4-11 : Tableau bilan (temps de demi-vie et produits) des différentes voies de dégradation des composés étudiés.

D'après ces différentes expériences sur les voies de dégradation il ressort que des composés tels que les acides glycolique et pyruvique devraient être présents à des concentrations très faibles dans les nuages ce qui est confirmé par nos mesures puisqu'ils ne sont pas systématiquement observés et, quand ils le sont, uniquement à des concentrations très

faibles. En effet l'acide pyruvique s'est révélé très instable vis-à-vis du H_2O_2 et probablement vis-à-vis d'autres espèces oxydantes. L'acide glycolique quant à lui présente des cinétiques de dégradation assez rapides mais surtout n'est jamais apparu comme pouvant être le produit d'une voie de dégradation parmi les autres acides carboxyliques étudiés.

Par contre, les acides oxalique, malonique, formique et acétique sont des produits très souvent formés dans les voies de dégradation, initiée par les radicaux HO^\bullet des composés organiques à chaîne carbonée plus longue. On les retrouve en effet à des concentrations très importantes dans tous nos échantillons de nuage. Mis à part d'éventuelles interférences dues à l'activité des microorganismes de la phase aqueuse des nuages, on remarquera les points suivants :

- La forte réactivité de l'acide formique ainsi que d'éventuels équilibres avec la phase gazeuse interstitielle risquent d'en faire un mauvais indicateur de la réactivité du nuage même si le rapport entre ses concentrations et celles du formaldéhyde pourrait être un indicateur de la capacité oxydante.
- L'acide acétique n'est pas un produit aussi souvent rencontré dans nos voies de dégradation que l'acide formique. Cependant la faible réactivité de l'acide acétique peut permettre de penser que son accumulation dans nos échantillons sera révélatrice de la réactivité photochimique de la phase aqueuse des nuages. Cependant on peut encore une fois craindre que les équilibres de transfert entre phases aqueuse et gazeuse introduiront un biais dans nos observations.
- L'acide oxalique (peu volatil) par contre ne devrait pas être influencé par ces équilibres gaz/liquide et présente une réactivité relativement faible, adéquate pour observer d'éventuels cycles photochimiques. Ce composé semble être un bon candidat pour suivre l'état d'oxydation d'une masse d'air.

Enfin on remarque que la réactivité des acides dicarboxyliques à longue chaîne carbonée est d'autant plus importante que les atomes de carbones sont substitués, ce qui est confirmé dans nos mesures *in situ* par l'abondance relative de ces différents acides dicarboxyliques. En effet l'acide succinique est très nettement plus abondant dans nos échantillons que ses équivalents en C_4 substitués que sont les acides tartrique et malique. Ceci s'explique très bien par l'arrachement plus facile de l'atome d'hydrogène des carbones tertiaires par rapport aux carbones secondaires.

L'ensemble de ces expériences nous permet de proposer un schéma général de dégradation allant de l'acide glutarique en C₅ jusqu'à sa minéralisation complète en CO₂ (cf. Figure 4-72).

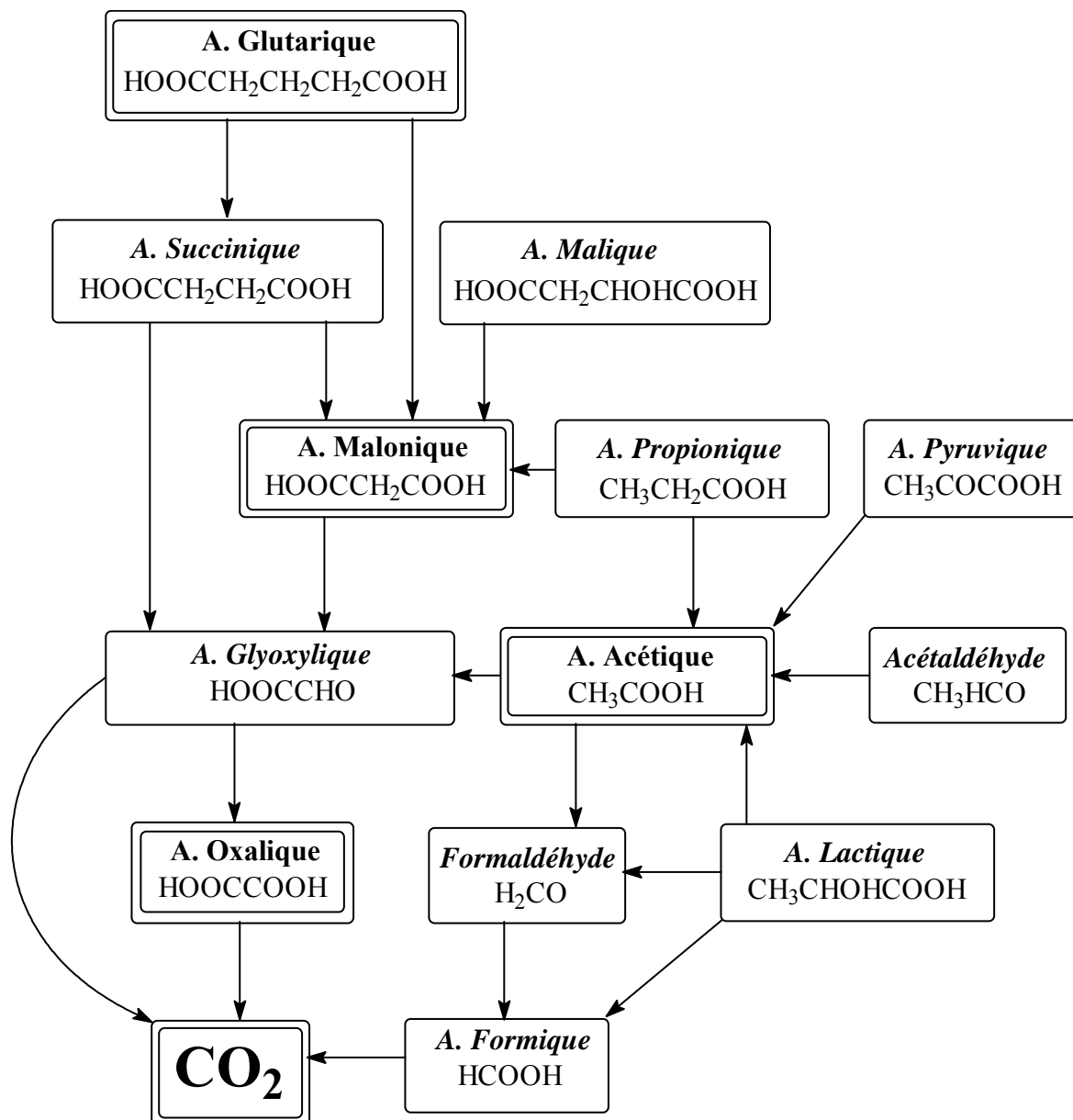


Figure 4-72 : Schéma général de dégradation des composés étudiés jusqu'au CO₂.

Ce schéma de dégradation est proposé selon les observations de terrain, les expériences en laboratoire et les schémas de dégradation théoriques. Il complète celui proposé par Ervens *et al.*, 2004(a) (cf. Figure 2-2 d'après Legrand *et al.*, 2007) avec lequel il partage de nombreuses voies de dégradation. Les différences tiennent au fait que l'étude théorique menée par Ervens *et al.*, 2004(a) n'envisageait pas toutes les voies de dégradation existant de

fait pour un composé donné. On remarquera que les acides malonique et acétique sont des produits souvent formés dans les dégradations des acides carboxyliques plus grands. L'acide oxalique est le composé le plus susceptible de s'accumuler dans la phase aqueuse des nuages du fait de sa plus faible réactivité et de sa position quasi terminale dans l'oxydation de la matière organique comme le concluaient également Ervens *et al.*, 2004(a).

4.6 Eau de nuage

Afin d'étudier la réactivité des acides carboxyliques dans l'eau de nuage nous avons abordé le problème dans le sens inverse de celui employé précédemment pour les sources d'oxydants dans la phase aqueuse des nuages. Au vu de la complexité des phénomènes mis en évidence dans les voies de dégradation des acides carboxyliques étudiés un par un, il semblait plus naturel d'étudier le comportement d'eau de nuage sous irradiation en laboratoire avant d'analyser les cycles éventuels pouvant être mis en évidence *in situ*.

4.6.1 Irradiations en laboratoire d'eau de nuage

Des expériences d'irradiation ont été conduites sur un échantillon de nuage dans des conditions similaires aux expériences précédentes. La composition de cet échantillon de nuage est indiquée dans le Tableau 4-12.

Composés	Concentrations (μM)
A. lactique	b.d.l.
A. acétique	b.d.l.
A. formique	0,39
A. glutarique	0,03
A. succinique	0,02
A. malonique	b.d.l.
A. oxalique	0,02
Cl^-	47,8
NO_2^-	0,6
NO_3^-	38,4
SO_4^{2-}	27,5
pH	5,6

Tableau 4-12 : Composition de l'échantillon de nuage irradié (b.d.l = en dessous de la limite de détection).

Une première irradiation a été menée sans ajout de H_2O_2 afin de tester la réactivité photochimique de la phase aqueuse en l'absence de fortes concentrations en oxydant et mettre en évidence d'autres sources aqueuses d'oxydants. Il faut remarquer que cet échantillon ne présentait pas forcément une concentration nulle en H_2O_2 même si ayant été congelé et décongelé puis laissé au repos une nuit au noir à 4°C une bonne partie du H_2O_2 avait dû disparaître. La deuxième expérience a été conduite avec ajout de $23 \mu\text{M}$ de H_2O_2 pour simuler

une concentration diurne et créer un apport massif de radicaux dans la phase aqueuse. Ces deux expériences conduisent aux observations suivantes :

- Dans les deux cas (avec et sans ajout de H_2O_2) on observe une augmentation des concentrations (ou des signaux pour ceux qui sont en dessous de la limite de détection) de tous les acides carboxyliques pendant les 8 heures au cours desquelles est conduite l'expérience, ceci à l'exception de l'acide lactique qui diminue. Les productions de ces acides carboxyliques sont significativement plus fortes dans l'expérience avec ajout de H_2O_2 .
- Pour tous les acides carboxyliques de ces deux expériences (mis à part le lactique, l'acétique et le malonique) on observe des courbes ayant la même allure montrant une croissance forte pendant la première heure d'expérience et une croissance plus faible ensuite (cf. exemple de l'acide oxalique Figure 4-73). Cette différence est beaucoup plus nette dans l'expérience conduite avec ajout de H_2O_2 où les pentes sont plus importantes montrant une réactivité plus grande (cf. Figure 4-73). Ceci nous indique que le H_2O_2 est une source photochimique importante de radicaux HO^\bullet dans la phase aqueuse du nuage.

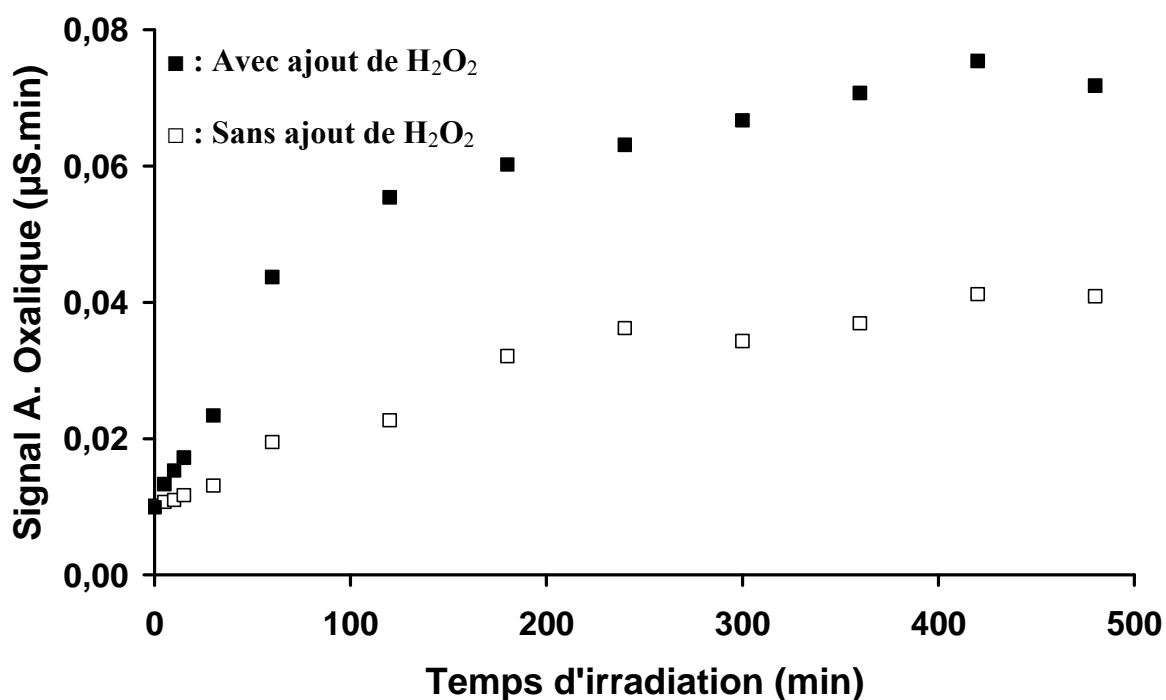


Figure 4-73 : Formation d'acide oxalique ($\mu\text{S.min}$) en fonction du temps d'irradiation d'un échantillon de nuage pour les deux expériences (avec et sans ajout de H_2O_2).

- Dans l'expérience conduite avec ajout de H_2O_2 , l'acide formique, l'acide succinique et l'acide oxalique semblent présenter des concentrations qui commencent à diminuer au bout de 7 heures d'irradiation. En l'absence d'échantillon après 8 heures d'irradiation il est cependant difficile de se prononcer sur cette baisse qui reste relativement faible.
- L'acide acétique présente des tendances similaires dans les deux expériences (cf. Figure 4-74). Cette tendance est différente de celles des autres acides carboxyliques évoqués précédemment puisque sa formation est quasiment linéaire. De plus on n'observe pas de différence importante entre l'expérience conduite avec ajout de H_2O_2 et celle sans ajout.

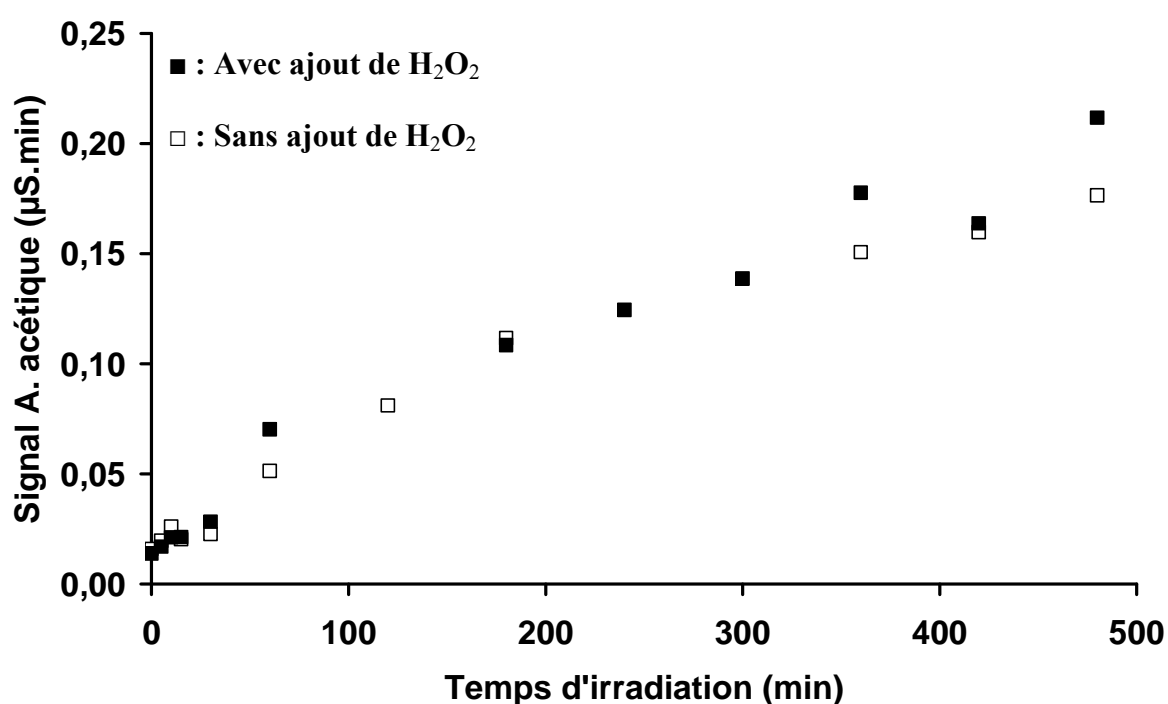


Figure 4-74 : Formation d'acide acétique ($\mu S \cdot min$) en fonction du temps d'irradiation d'un échantillon de nuage pour les deux expériences (avec et sans ajout de H_2O_2).

- L'acide malonique montre des concentrations en dessous des limites de détection du signal de chromatographie ionique au début de l'expérience et apparaît au bout de 1 heure d'irradiation dans l'expérience conduite avec ajout de H_2O_2 contre au bout de 3 heures d'irradiation dans l'expérience sans ajout de H_2O_2 (cf. Figure 4-75).

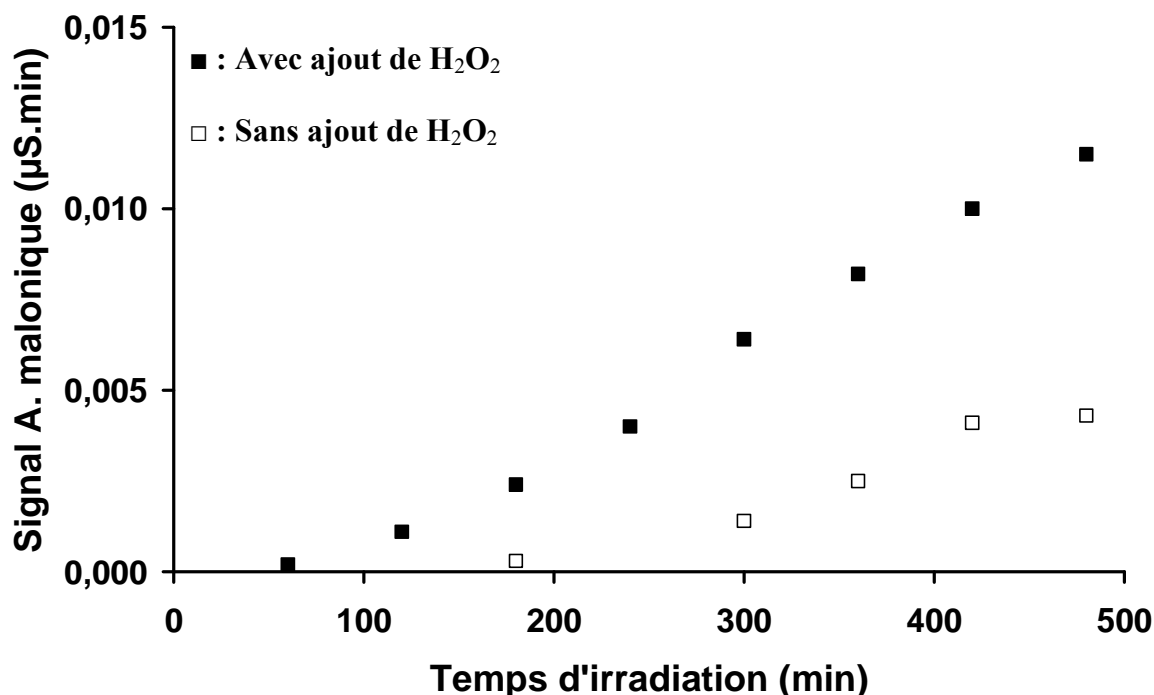


Figure 4-75 : Formation d'acide malonique (μS.min) en fonction du temps d'irradiation d'un échantillon de nuage pour les deux expériences (avec et sans ajout de H₂O₂).

- Pour ces deux expériences, et de manière assez similaire, on constate au cours du temps une augmentation linéaire des nitrites avec une diminution de la concentration en nitrates. Cette diminution est de l'ordre de 1 μM de NO₃⁻ (soit environ 3% de la concentration initiale en nitrate) en 8 heures d'irradiation et l'augmentation est de l'ordre de 50% de la concentration initiale en nitrites (soit 0,3 μM sans H₂O₂ et 0,5 μM avec ajout de H₂O₂) en 8 heures d'irradiation.

L'irradiation d'eau nuageuse (avec ou sans ajout de H₂O₂) dans nos conditions expérimentales conduit à la formation des acides carboxyliques étudiés. Ceci montre une décomposition de la matière organique présente dans l'eau du nuage par photooxydation. Des espèces photoinductrices macromoléculaires sont donc présentes dans ce milieu. Cette photooxydation est plus importante après ajout de H₂O₂ (23 μM) et montre bien le rôle important de ce dernier comme source photochimique de radicaux HO[•]. De plus, ces expériences ont également mis en évidence la formation d'acide malonique (non détecté au temps t₀) ce qui confirme que cet acide est un intermédiaire clef dans la dégradation des composés organiques tel que cela avait été montré dans notre schéma général de dégradation (cf. Figure 4-72).

4.6.2 Résultats de terrain

L'observation d'éventuels cycles photochimiques pour les acides carboxyliques dans nos échantillons nécessite de bien choisir les paramètres étudiés. En effet il ne nous est pas possible de regarder directement les concentrations des différents acides carboxyliques en fonction du temps car ces concentrations sont tributaires d'un grand nombre de phénomènes susceptibles de perturber l'identification des phénomènes photochimiques (notamment les phénomènes de dilution). En conséquence nous nous sommes penchés sur le rapport entre les différents acides carboxyliques et le carbone organique total (TOC). En effet comme la photochimie amène à la dégradation de composés organiques et à leur transformation en acides carboxyliques, les diacides carboxyliques peu réactifs, comme l'acide malonique et surtout l'acide oxalique, devraient s'accumuler au cours de la journée. Cependant le carbone organique total (TOC) n'est disponible que pour 53 des 120 échantillons où des mesures d'acides carboxyliques ont été effectuées. Nous nous sommes donc attachés à trouver un paramètre de remplacement nous permettant de bénéficier au mieux de notre base de données. Le carbone organique total s'étant révélé bien corrélé avec les concentrations en NO_3^- ce seront donc ces dernières que nous utiliserons pour normaliser nos concentrations en acides carboxyliques.

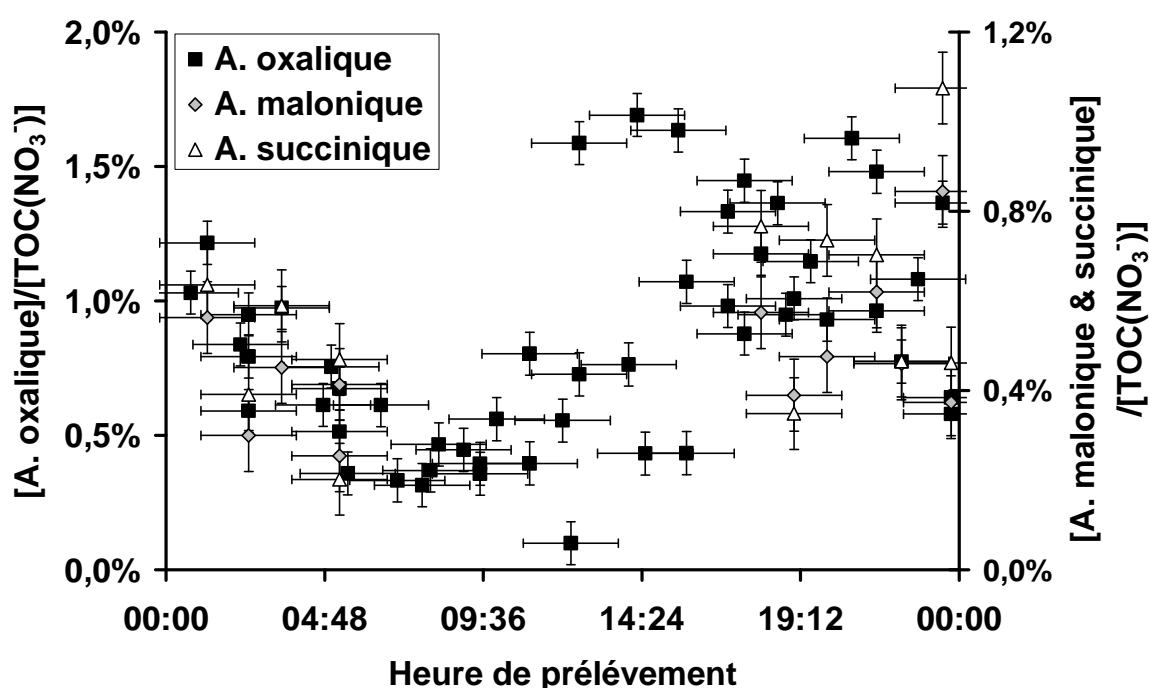


Figure 4-76 : Evolution du rapport entre les acides succinique, malonique et oxalique et le carbone organique total (extrapolé des concentrations en NO_3^-) en fonction de l'heure d'échantillonnage (événements #2, #3, #5, #6, #37 et #40).

Le rapport acide oxalique/ NO_3^- pour six événements échantillonnés sur un cycle jour nuit complet (#2, #3, #5, #6, #37 et #40) montre une nette tendance à diminuer pendant la nuit, atteignant ses valeurs les plus basses entre 5h00 et 9h00 du matin. Ce rapport augmente ensuite tout au long de la journée jusqu'à 18h00 (cf. Figure 4-76). Cette accumulation de l'acide oxalique semble bien en accord avec les différentes observations que nous avons pu effectuer en laboratoire sur la photochimie des acides carboxyliques et de l'eau nuageuse.

Des tendances similaires semblent se dégager des acides succinique et malonique sans qu'il soit possible de dégager une tendance convenable à cause d'un manque de données en milieu de journée (cf. Figure 4-76). Cependant, les rapports moyens de ces deux acides sur le carbone organique total extrapolé du NO_3^- montrent des valeurs plus faibles en début journée qu'en fin de journée. Ces tendances ne sont pas mises en évidence pour les acides formique et acétique dont les concentrations sont aussi fortement dépendantes des équilibres phase gazeuse / phase aqueuse. Il en est de même pour le formaldéhyde qui montre des tendances similaires aux acides dicarboxyliques, mais qui présente cependant un effet de source en fonction de l'origine des masses d'air rendant difficile toute interprétation photochimique *in situ*.

4.6.3 Bilan réactivité des acides carboxyliques

Cette étude menée sur les voies de dégradation des acides carboxyliques et sur la phase aqueuse du nuage a permis de mettre en évidence un certain nombre de points importants pour la chimie de la phase aqueuse atmosphérique.

Nous avons pu tout d'abord établir un schéma général des dégradations des acides carboxyliques fréquemment observés dans la phase aqueuse des nuages par attaque des radicaux HO^\bullet . Ce schéma général met en évidence l'intérêt de l'étude des acides malonique, acétique et oxalique dans la phase aqueuse des nuages en tant que composés intermédiaires faiblement réactifs susceptibles de s'accumuler au cours des cycles photochimiques.

L'irradiation d'eau nuageuse prélevée au sommet du puy de Dôme a montré la formation d'acides carboxyliques au cours de l'expérience. Ceux-ci sont produits par la dégradation de la matière organique (macromolécules, colloïdes, substances humiques) en acides monocarboxyliques et dicarboxyliques vraisemblablement par attaque des radicaux HO^\bullet . Ce résultat montre que la photochimie est capable d'oxyder la matière organique en composés simples (acides carboxyliques) et donc que la source de ce type de composés est

aussi secondaire. La réactivité photochimique de la phase aqueuse des nuages sur les sources aqueuses d'acides carboxyliques est donc confirmée même si des expériences semblables sur d'autres échantillons de nuage sont nécessaires pour confirmer que ce caractère est partagé par toutes les masses d'air.

Nos observations de terrain sur la phase aqueuse des nuages confirment la réactivité de la matière organique. La formation photochimique d'acides carboxyliques très nette pour l'acide oxalique confirme son rôle clef pour la mise en évidence de la réactivité photochimique de la phase aqueuse des nuages. Il existe une forte cohérence entre nos expériences en laboratoire et nos observations *in situ* au sommet du puy de Dôme. Cependant, il est important de continuer de mener ces deux approches simultanément afin de pouvoir aller plus loin dans la compréhension des mécanismes présents dans ce milieu.

5 Conclusion générale

Ce travail de thèse nous a permis de caractériser la chimie de la phase aqueuse des nuages échantillonnée au sommet du puy de Dôme afin de mettre en évidence les influences anthropiques et d'estimer leur impact sur la réactivité des nuages. Nous avons pu étudier le rôle du fer et du H_2O_2 en tant que sources de radicaux HO^\bullet dans la phase aqueuse des nuages grâce à une étude de terrain et de laboratoire. Ceci nous a amené à caractériser les voies de dégradations de nombreux acides carboxyliques par ces radicaux HO^\bullet afin de pouvoir en faire ressortir un schéma général des dégradations de ces acides carboxyliques dans la phase aqueuse des nuages. Ces dégradations par voie photochimique ont été comparées en laboratoire aux biodégradations opérées par des microorganismes isolés de la phase aqueuse des nuages.

La climatologie des masses d'air nuageuse atteignant le puy de Dôme est maintenant bien caractérisée. L'influence océanique des masses d'air en provenance de l'ouest se traduit par une forte proportion de sodium dans les échantillons corrélée à des populations en microorganismes plus importantes. L'influence anthropique des masses d'air en provenance du nord-est est mise en évidence par des pH faibles corrélés à une forte proportion de nitrates et des concentrations plus importantes en formaldéhyde.

La réactivité du fer dans les gouttelettes de nuages prélevées au puy de Dôme s'est avérée être très surestimée par les modèles. Une forte interaction avec la matière organique macromoléculaire obtenue au cours du vieillissement des masses d'air est suspectée de bloquer la photoréactivité du fer. A contrario, pour le H_2O_2 nous avons mis en évidence une forte source photochimique gazeuse qui après transfert se répercute dans les gouttelettes de nuages. Cette source potentielle de radicaux HO^\bullet est toutefois affectée négativement par l'anthropisation des masses d'air. Le H_2O_2 est apparu comme un oxydant photochimique important dans la phase aqueuse

De plus, les expériences en laboratoire de photodégradation et de biodégradation ont permis, notamment par une expérience combinée, de confirmer le rôle potentiel des microorganismes dans la réactivité de la phase aqueuse des nuages. Cette expérience nous a permis de faire un premier pas vers une approche comparative des potentiels de la photochimie et de la biocatalyse dans la réactivité de la phase aqueuse des nuages.

Enfin, l'étude de la réactivité des acides carboxyliques nous a permis d'établir un schéma général des voies de dégradation d'un certain nombre d'acides carboxyliques, de mettre en évidence une production aqueuse photochimique d'acides carboxyliques à courte chaîne en laboratoire et enfin de suspecter cette même production sur le terrain. L'ensemble de ces expériences a montré le rôle prépondérant de l'acide oxalique comme témoin de la réactivité photochimique de la phase aqueuse des nuages en tant que produit moins réactif et quasi terminal de dégradation de la matière organique. Ceci est également valable avec les acides acétique et malonique qui sont eux aussi susceptibles d'être de bons témoins de cette réactivité.

6 Perspectives

Tout d'abord il serait intéressant d'affiner l'étude *in situ* des cycles photochimiques des acides carboxyliques avec une meilleure résolution temporelle ainsi qu'en terme d'identification des composés organiques notamment carboxyliques. L'affinement des voies de dégradation de la matière organique par attaque des espèces radicalaires de la phase aqueuse des nuages serait une contribution importante aux travaux de modélisation entrepris sur les gouttelettes de nuages. En effet, l'étude de la photodégradation en laboratoire de l'eau de nuage a mis en évidence la présence dans la phase aqueuse de composés susceptibles de produire des acides carboxyliques. L'identification de ces composés et l'étude de leurs voies de dégradation constitueraient un élément de réponse intéressant dans le cadre des incertitudes qui existent sur les sources secondaires d'acides carboxyliques dans l'atmosphère.

Les expériences combinées entre photodégradation et biodégradation sur des milieux « artificiels » et des échantillons naturels stérilisés etensemencés avec des souches isolées de la phase aqueuse des nuages devraient permettre une meilleure estimation du rôle de ces différents processus dans la réactivité des nuages. Seul un rapprochement progressif vers les conditions naturelles est susceptible de permettre une modélisation pertinente de ces processus bactériens qui pourraient se révéler être de première importance pour la réactivité de la phase aqueuse des nuages.

Les résultats obtenus sur l'influence de l'anthropisation des masses d'air sur les concentrations en H_2O_2 et sur les concentrations en microorganismes (et donc sur leur réactivité potentielle en nuage) pose encore une fois la question cruciale de l'impact des activités humaines sur notre environnement. En effet nous avons montré dans ce cas qu'une très forte pression anthropique va modifier de façon négative la capacité oxydante de la phase aqueuse des nuages. Nos résultats montrent qu'il est très important de continuer un suivi de ce milieu afin de connaître et de contrôler jusqu'à quel point la phase aqueuse des nuages sera capable de répondre à ces modifications liées aux activités humaines. De plus des irradiations en laboratoire d'eau de nuage sous différentes influences devraient apporter des éléments de réponse sur l'impact de l'anthropisation de la masse d'air pour la réactivité de la phase aqueuse du nuage.

7 Références des tableaux et figures

*« La tempête au-dessous de lui formait
un autre monde, de trois mille mètres
d'épaisseur, parcouru de rafales, de
trombes d'eau, d'éclairs, mais elle tournait
vers les astres une face de cristal et de neige. »*

Vol de nuit – Antoine de Saint-Exupéry

7.1 Tables

Tableau 2-1 : Valeurs de LWC de nuages reportées dans la littérature.	26
Tableau 2-2 : Valeurs de pH dans la phase aqueuse des nuages reportées dans la littérature.	27
Tableau 2-3 : Valeurs de conductivité dans différents milieux.	29
Tableau 2-4 : Valeurs de conductivité molaire pour les principaux ions des hydrométéores.	29
Tableau 2-5 : Valeurs de contenu total en ions dans la phase aqueuse des nuages reportées dans la littérature.	30
Tableau 2-6 : Rapports molaires dans l'aérosol marin de quelques éléments ioniques en utilisant le Na^+ comme référence.	34
Tableau 2-7 : Valeurs de fer (et spéciation) dans les nuages reportées dans la littérature.	46
Tableau 2-8 : Valeurs de H_2O_2 dans la phase aqueuse des nuages reportées dans la littérature.	52
Tableau 2-9 : Concentrations d'aldéhydes dans la phase aqueuse des nuages reportées dans la littérature.	64
Tableau 2-10 : Constantes de réactivité des radicaux HO^\bullet sur des composés organiques (298 K) d'après Buxton <i>et al.</i> , 1988 ⁽¹⁾ , Ervens <i>et al.</i> , 2003(a) ⁽²⁾ , Herrmann, 2003 ⁽³⁾ , Schuchmann and Von Sonntag, 1988 ⁽⁴⁾	67
Tableau 3-1 : Intercomparaison entre les méthodes de dosage du fer par spectrophotométrie et par analyseur à métaux pour une solution étalon certifiée de Fe^{2+} de $500 \mu\text{g.L}^{-1}$ s'étant partiellement oxydée en Fe^{3+}	88
Tableau 4-1 : Tableau bilan des mesures effectuées pour les différents événements nuageux au sommet du puy de Dôme au cours de campagnes d'échantillonnage entre 2001 et 2006 (les événements jusqu'au #17 inclus ont été abordés par Marinoni <i>et al.</i> , 2004).	104
Tableau 4-2 : Concentrations molaires (μM) des principaux ions inorganiques mesurés dans la phase aqueuse des nuages du pdD (b.d.l. = inférieur à la limite de détection).	111
Tableau 4-3 : Concentrations (μM) obtenues pour les principaux acides carboxyliques.	120
Tableau 4-4 : Coefficients de régression linéaire de Pearson pour les acides carboxyliques et quelques ions d'origine anthropique (SO_4^{2-} , NO_3^- et NH_4^+).	120
Tableau 4-5 : Composition des solutions artificielles.	145
Tableau 4-6 : Comparaison des constantes apparentes de dégradation de l'acide formique et de l'acide succinique en milieu océanique 10 fois plus concentré pour trois concentrations différentes de H_2O_2	146
Tableau 4-7 : Comparaison des taux de biodégradation ($\mu\text{M.h}^{-1}$) en milieu anthropisé entre les biodégradations simple, les photodégradations simples et l'expérience combinée (* = en présence de H_2O_2 – n.d. = non déterminé).	151
Tableau 4-8 : Composés étudiés (formules, constante cinétique d'attaque par les radicaux HO^\bullet les plus récentes (cf. Tableau 2-10) et pKa)	160
Tableau 4-9 : Conditions initiales en A. glutarique et H_2O_2 ainsi que les constantes apparentes des cinétiques du premier ordre et répartition de l'attaque des radicaux HO^\bullet pour l'évaluation de l'effet des concentrations initiales en H_2O_2 pour la dégradation de l'A. glutarique.	162
Tableau 4-10 : Comparaison de constantes cinétiques apparentes en utilisant H_2O_2 (11,5 mM) et NO_3^- (11,5 mM) comme source de radicaux pour les acides formique et glutarique.	163
Tableau 4-11 : Tableau bilan (temps de demi-vie et produits) des différentes voies de dégradation des composés étudiés.	196

Tableau 4-12 : Composition de l'échantillon de nuage irradié (b.d.l = en dessous de la limite de détection).	200
--	-----

7.2 Figures

Figure 2-1 : Répartition molaire des différents acides carboxyliques mesurés dans la phase aqueuse des nuages prélevés au puy de Dôme (d'après Marinoni <i>et al.</i> , 2004).....	59
Figure 2-2 : Production d'acides carboxyliques (C2 à C5) à partir de composés issus de sources biogéniques et anthropiques d'après Legrand <i>et al.</i> , 2007 (adapté de Ervens <i>et al.</i> , 2004(a) et de Lim <i>et al.</i> , 2005) (avec dans le cadre la chimie en phase aqueuse et en dehors du cadre en phase gazeuse).....	62
Figure 2-3 : Evolution de la concentration en ATP et en bactéries (comptées par épifluorescence) dans un échantillon d'eau nuageuse conservé à 17°C et sous agitation (200 rpm) (d'après Amato <i>et al.</i> , 2007(c)).	70
Figure 2-4 : Métabolisme du glyoxylate et des acides dicarboxyliques (les acides carboxyliques classiques de la phase aqueuse des nuages sont entourés, les numéros représentent des enzymes impliquées dans les différentes voies de transformation métaboliques) (source KEGG : http://www.genome.jp/kegg/pathway.html#metabolism).	71
Figure 2-5 : Comparaison des schémas de dégradation d'un composé en C ₁ par la chimie radicalaire et par dégradation biotique (d'après Monod <i>et al.</i> , 2000. et Delort, 2006)	72
Figure 3-1 : Schéma en coupe de l'impacteur à gouttelettes d'après Kruisz <i>et al.</i> , 1993.	82
Figure 3-2 : Réaction du DPD avec H ₂ O ₂ en présence de peroxydase.	85
Figure 3-3 : Structure de la ferrocine	86
Figure 3-4 : Eluant PAR.....	87
Figure 3-5 : Complexant PDCA.....	87
Figure 3-6 : Réaction de Hantzsch.	89
Figure 3-7 : Schéma de l'enceinte de modèle elliptique à 3 néons (1 : système de refroidissement interne – 2 : néons 15 W – 3 : réacteur 1 L).	94
Figure 3-8 : Spectre d'émission des néons Philips, TLD 15 W / 05.	94
Figure 3-9 : Schéma de l'enceinte de modèle cylindrique à 4 néons (1 : système de refroidissement externe – 2 : néons 15 W – 3 : réacteur 1 L)	95
Figure 3-10 : Schéma de l'enceinte équipée d'une lampe xénon (vue de profil) (1 : lampe xénon 1000 W – 2 : filtre IR à eau – 3 : miroir – 4 : réacteur).	96
Figure 3-11 : Schéma du réacteur (vue de profil) (1 : vitre pyrex – 2 : système de refroidissement – 3 : solution à irradier – 4 : agitateur magnétique).	97
Figure 3-12 : Spectre d'émission de la lampe xénon utilisée dans nos irradiations (données constructeur).	97
Figure 3-13 : Pourcentage de lumière réfléchi par le miroir en fonction de la longueur d'onde λ (nm) (points expérimentaux et droites utilisées pour l'actinométrie).	98
Figure 3-14 : Photolyse du PNA en présence de pyridine.	98
Figure 4-1 : Orientations des différentes masses d'air utilisées dans cette étude.	105
Figure 4-2 : Variations du pH dans les échantillons de nuage selon l'origine de la masse d'air.	107
Figure 4-3 : Coévolution du pH et du potentiel d'oxydoréduction (ou rédox) (E _h).	109
Figure 4-4 : Corrélation entre les conductivités mesurées et calculées à partir des ions majeurs.	110
Figure 4-5 : Corrélation entre la conductivité mesurée et le contenu total en ion (TIC).	110
Figure 4-6 : Concentrations ioniques par volume d'air (en nmol.m ⁻³) en fonction de l'origine des masses d'air.	112

Figure 4-7 : Part du Na^+ dans le contenu total en ions (TIC) selon l'origine de la masse d'air.	113
Figure 4-8 : Part du NO_3^- dans le contenu total en ions (TIC) selon l'origine de la masse d'air.	114
Figure 4-9 : Part du NH_4^+ dans le contenu total en ions (TIC) selon l'origine de la masse d'air.	115
Figure 4-10 : Corrélations entre les concentrations (en μM) en nitrates et sulfates d'une part et ammonium d'autre part.	116
Figure 4-11 : Pourcentage des SO_4^{2-} d'origine non marine parmi les SO_4^{2-} totaux selon l'origine de la masse d'air.	117
Figure 4-12 : Pourcentage des K^+ d'origine non marine parmi les K^+ totaux selon l'origine de la masse d'air.	118
Figure 4-13 : Corrélation entre le NO_3^- et le NH_4^+ d'une part et le carbone organique total (TOC) d'autre part.	119
Figure 4-14 : Corrélation entre le pH et la concentration en formaldéhyde mesurés dans nos échantillons.	122
Figure 4-15 : Quantité moyenne de formaldéhyde selon l'origine de la masse d'air (Nord non représenté car ne disposant pas de donnée).	123
Figure 4-16 : Pourcentage de cellules bactériennes cultivables (à 15°C et 27°C) en fonction de la saison (d'après Amato <i>et al.</i> , 2007(b)).	125
Figure 4-17 : Nombre de bactéries (cellules. mL^{-1}) en fonction des concentrations en sodium (μM) (d'après Amato <i>et al.</i> , 2007(b)).	126
Figure 4-18 : Nombre de champignons (cellules. mL^{-1}) en fonction des concentrations en sodium (μM) (d'après Amato <i>et al.</i> , 2007(b)).	126
Figure 4-19 : Nombre de bactéries (cellules. mL^{-1}) en fonction du pH (d'après Amato <i>et al.</i> , 2007(b)).	127
Figure 4-20 : Concentrations en Fe(Total) en fonction de la conductivité.	129
Figure 4-21 : Concentrations en Fe(Total) en fonction du pH.	130
Figure 4-22 : Concentrations en carbone organique total (TOC) en fonction de celles en Fe(Total).	131
Figure 4-23 : Coévolution des concentrations en TOC et en Fe(Total).	131
Figure 4-24 : Concentrations en Fe(II) en fonction des concentrations en Fe(Total).	133
Figure 4-25 : Diagramme de Pourbaix du fer pour les échantillons de nuages prélevés au pdD.	134
Figure 4-26 : Concentrations en H_2O_2 mesurées en fonction de la température au sommet du pdD pendant le prélèvement.	137
Figure 4-27 : Moyennes diurnes et nocturnes en fonction de l'origine de la masse d'air (le Nord n'est pas représenté car il ne dispose d'aucun échantillon utilisable).	139
Figure 4-28 : Comparaison de l'évolution des concentrations en H_2O_2 (points) pour deux événements (#39 Océanique □ et #40 Anthropisé ■) avec le JNO_2 de ces mêmes prélèvements (lignes en pointillés pour l'océanique et pleine pour l'anthropique).	141
Figure 4-29 : Evolution du H_2O_2 au cours de 7 irradiations d'eau nuageuse sous influence océanique.	142
Figure 4-30 : Cinétiques du premier ordre de dégradation de l'acide formique en milieu océanique (10 fois plus concentré) pour trois concentrations différentes en H_2O_2 (46 μM , 230 μM et 575 μM).	147
Figure 4-31 : Cinétique du premier ordre de dégradation de l'acide formique pour les milieux 10 fois plus concentrés et à la concentration du nuage.	148
Figure 4-32 : Mécanisme général d'attaque d'une chaîne alkyle par les radicaux HO^\bullet (d'après Von Sonntag and Schuchmann, 1991 et Von Sonntag and Schuchmann, 1997).	154

Figure 4-33 : Mécanisme général d'attaque d'une chaîne alkyle par les radicaux HO [•] (d'après Von Sonntag and Schuchmann, 1991 et Von Sonntag and Schuchmann, 1997).....	155
Figure 4-34 : Etat de transition proposé pour la réaction de Russel.....	156
Figure 4-35 : Etat de transition proposé pour la voie (II).....	156
Figure 4-36 : Devenir des radicaux alkoxyyles issus de la voie (IV) (d'après Von Sonntag and Schuchmann, 1991).....	157
Figure 4-37 : Mécanisme général de recombinaison du radical HOOC [•]	159
Figure 4-38 : Evolution du coefficient d'absorption molaire ε (M ⁻¹ .cm ⁻¹) du H ₂ O ₂ en fonction de la longueur d'onde.	161
Figure 4-39 : (□) Evolution de la constante apparente de disparition de l'acide glutarique k (min ⁻¹) et répartition de l'attaque des radicaux HO [•] entre le H ₂ O ₂ (...) et l'acide glutarique (-.-) en fonction des concentrations initiales en H ₂ O ₂ (échelle logarithmique) sous irradiation.	163
Figure 4-40 : Voies de dégradation de l'acide formique par attaque des radicaux HO [•]	166
Figure 4-41 : Voies de dégradation théorique de l'acide acétique par attaque des radicaux HO [•]	167
Figure 4-42 : Voie de dégradation de l'acide oxalique par attaque des radicaux HO [•]	168
Figure 4-43 : Evolution du coefficient d'absorption molaire ε (M ⁻¹ .cm ⁻¹) de l'acide oxalique.	168
Figure 4-44 : Photolyse de l'acide oxalique.	169
Figure 4-45 : Formation d'acide formique (μM) au cours de l'irradiation du formaldéhyde ayant permis de calculer le temps de demi-vie de ce dernier.....	170
Figure 4-46 : Voies de dégradation du méthanediol par attaque des radicaux HO [•]	171
Figure 4-47 : Voies de dégradation de l'acétaldéhyde par attaque des radicaux HO [•]	172
Figure 4-48 : Voie de dégradation de l'acétaldéhyde hydraté par attaque des radicaux HO [•]	173
Figure 4-49 : Evolution de la concentration en acide acétique pendant l'irradiation de l'acétaldéhyde en présence de H ₂ O ₂	173
Figure 4-50 : Voies de dégradation de l'acide glyoxylique par attaque des radicaux HO [•]	175
Figure 4-51 : Evolution des concentrations en acide glyoxylique et acide oxalique sous irradiation en présence de H ₂ O ₂	175
Figure 4-52 : Evolution des concentrations de l'acide glycolique et de l'acide oxalique, et du signal de l'acide formique et/ou glyoxylique (coélués) au cours de l'irradiation de l'acide glycolique en présence de H ₂ O ₂	176
Figure 4-53 : Voies de dégradation de l'acide glycolique par attaque des radicaux HO [•]	177
Figure 4-54 : Voie de dégradation de l'acide glycolique par attaque des radicaux HO [•] proposée par Karpel Vel Leitner and Doré, 1997.	177
Figure 4-55 : Premières voies de dégradation de l'acide propionique par attaque des radicaux HO [•]	179
Figure 4-56 : Deuxièmes voies de dégradation de l'acide propionique par attaque des radicaux HO [•]	180
Figure 4-57 : Deuxième voie de dégradation de l'acide lactique par attaque des radicaux HO [•]	181
Figure 4-58 : Premières voies de dégradation de l'acide lactique par attaque des radicaux HO [•]	182
Figure 4-59 : Mécanisme de dégradation de l'acide pyruvique par réaction avec le H ₂ O ₂ d'après Stefan and Bolton, 1999	183
Figure 4-60 : Evolution du coefficient d'absorption molaire ε (M ⁻¹ .cm ⁻¹) de l'acide pyruvique.	184

Figure 4-61 : Evolutions des concentrations en acide malonique, acide glyoxylique et acide oxalique au cours de l'irradiation de l'acide malonique en présence de H_2O_2	185
Figure 4-62 : Voies de dégradation de l'acide malonique par attaque des radicaux HO^\bullet	186
Figure 4-63 : Evolutions des concentrations en acide glyoxylique, acide succinique, acide malonique et acide oxalique au cours de l'irradiation de l'acide succinique en présence de H_2O_2	187
Figure 4-64 : Voies de dégradation de l'acide succinique par attaque des radicaux HO^\bullet	188
Figure 4-65 : Premières voies de dégradation de l'acide malique par attaque des radicaux HO^\bullet	189
Figure 4-66 : Deuxièmes voies de dégradation de l'acide malique par attaque des radicaux HO^\bullet	190
Figure 4-67 : Voies de dégradation de l'acide tartrique par attaque des radicaux HO^\bullet	191
Figure 4-68 : Voies de dégradation de l'acide tartronique par attaque des radicaux HO^\bullet	192
Figure 4-69 : Evolution des concentrations en acide glutarique, acide succinique et acide malonique au cours de l'irradiation de l'acide glutarique en présence de H_2O_2	193
Figure 4-70 : Premières voies de dégradation de l'acide glutarique par attaque des radicaux HO^\bullet	194
Figure 4-71 : Deuxièmes voies de dégradation de l'acide glutarique par attaque des radicaux HO^\bullet	195
Figure 4-72 : Schéma général de dégradation des composés étudiés jusqu'au CO_2	198
Figure 4-73 : Formation d'acide oxalique ($\mu S.min$) en fonction du temps d'irradiation d'un échantillon de nuage pour les deux expériences (avec et sans ajout de H_2O_2).	201
Figure 4-74 : Formation d'acide acétique ($\mu S.min$) en fonction du temps d'irradiation d'un échantillon de nuage pour les deux expériences (avec et sans ajout de H_2O_2).	202
Figure 4-75 : Formation d'acide malonique ($\mu S.min$) en fonction du temps d'irradiation d'un échantillon de nuage pour les deux expériences (avec et sans ajout de H_2O_2).	203
Figure 4-76 : Evolution du rapport entre les acides succinique, malonique et oxalique et le carbone organique total (extrapolé des concentrations en NO_3^-) en fonction de l'heure d'échantillonnage (événements #2, #3, #5, #6, #37 et #40).	204

8 Références bibliographiques

Amato, P., Ménager, M., Sancelme, M., Laj, P., Mailhot, G. and Delort, A-M., 2005: Microbial population in cloud water at the Puy de Dôme: Implications for the chemistry of clouds. *Atmospheric Environment* 39, 4143-4153.

Amato, P., 2006: Les communautés microbiennes de l'eau des nuages : implication dans la chimie troposphérique. Université Blaise Pascal Clermont-Ferrand II, Clermont-Ferrand, France.

Amato, P., Parazols, M., Sancelme, M., Laj, P., Mailhot, G. and Delort, A-M., 2007(a): Microorganisms isolated from the water phase of tropospheric clouds: Major groups and growth abilities at low temperatures. *FEMS Microbiology Ecology* 59, 255-264.

Amato, P., Parazols, M., Sancelme, M., Mailhot, G., Laj, P. and Delort, A-M., 2007(b): An important oceanic source of micro-organisms for cloud water at the puy de Dôme (France). *Atmospheric Environment* doi: 10.1016.

Amato, P., Demeer, F., Melaouhi, A., Fontanella, S., Martin-Biesse, A-S., Sancelme, M., Laj, P. and Delort, A-M., 2007(c): A fate for organic acids, formaldehyde and methanol in cloud water: their biotransformation by micro-organisms. *Atmospheric Chemistry and Physics* 7, 4159-4169.

Amato, P., Sancelme, M., Laj, P., Delort, A-M., 2007(d): Is oxidation of organic compounds in clouds by microorganisms an alternative route to radical chemistry? *Applied and Environmental Microbiology*, submitted.

Anastasio, C. and Jordan, A.L., 2004: Photoformation of hydroxyl radical and hydrogen peroxide in aerosol particles from Alert, Nunavut: implication for aerosol and snowpack chemistry in the Arctic. *Atmospheric Environment* 38, 1153-1166.

Anastasio, C., Faust, B.C. and Rao, C.J., 1997: Aromatic carbonyl compounds as aqueous-phase photochemical sources of hydrogen peroxide in acidic sulphate aerosols, fogs, and clouds. 1. Non-phenolic methoxybenzaldehydes and methoxyacetophenones with reductants (phenols). *Environmental Science and Technology* 31, 218-232.

Anderson, J.R., Buseck, P.R., Patterson, T.L., and Arimato, R., 1996: Characterization of Bermuda tropospheric aerosol by combined individual-particle and Bulk-aerosol analysis. *Atmospheric Environment* 30(2), 319-338.

Arakaki, T. and Faust, B.C., 1998: Sources, sinks, and mechanism of hydroxyl radical ($\bullet\text{OH}$) photoproduction and consumption in authentic acidic continental cloudwaters from Whiteface Mountain, New York: The role of the Fe(r) (r = II, III) photochemical cycle. *Journal of Geophysical Research* 103(D3), 3487-3504.

Arakaki, T., Anastasio, C., Shu, P.G. and Faust B.C., 1995: Aqueous-phase photoproduction of hydrogen peroxide in authentic cloud waters: wavelength dependence, and effects of filtration and freeze-thaw cycles. *Atmospheric Environment* 29(14), 1697-1703.

Arakaki, T., Kuroki, Y., Okada, K., Nakama, Y., Ikota, H., Kinjo, M., Higuchi, T., Uehara, M. And Tanahara, A., 2006: Chemical composition and photochemical formation of hydroxyl radicals in aqueous extracts of aerosol particles collected in Okinawa, Japan. *Atmospheric Environment* 40, 4764-4774.

Ariya, P.A. and Amyot, M., 2004: New direction: the role of bioaerosols in atmospheric chemistry and physics. *Atmospheric Environment* 38, 1231-1232.

Ariya, A., Nepotchatykh, O., Ignatova, O. And Amyot, M., 2002: Microbiological degradation of atmospheric organic compounds. *Geophysical Research Letter* 29, 2077-2081.

Atkinson, R. and Arey, J., 2003: Atmospheric degradation of volatile organic compounds. *Chemical Review* 103, 4605-4638.

Avery, G.B.Jr., Willey, J.D. and Kieber, R.J, 2001: Diurnal variations in major rainwater components at a coastal site in North Carolina. *Atmospheric Environment* 35, 3927-3933.

Azimi, S., Ludwig, A., Thévenot, D.R., and Colin J-L., 2003: Trace metal determination in total atmospheric deposition in rural and urban areas. *The Science of the Total Environment* 308, 247-256.

Bader, H., Sturzenegger, V. and Hoigné, J., 1988: Photometric method for the determination of low concentrations of hydrogen peroxide by the peroxidase catalyzed oxidation of N,N-diethyl-*p*-phenylenediamine (DPD). *Water Research* 22(9), 1109-1115.

Baez, A.P., Belmont, R. and Padilla, H., 1995: Measurements of formaldehyde and acetaldehyde in the atmosphere of Mexico city. *Environmental Pollution* 89(2), 163-167.

Baltensperger, U., Schwikowski, M., Jost, D.T., Nyeki, S., Gäggeler, H.W. and Poulida, O., 1998: Scavenging of atmospheric constituents in mixed phase clouds at the High-Alpine site Jungfraujoch – Part I. Basic concept and aerosol scavenging by clouds. *Atmospheric Environment* 32(23), 3975-3983.

Behra, P. and Sigg, L., 1990: Evidence for redox cycling of iron in atmospheric water droplets. *Nature* 344, 419-421.

Betterton, E.A., Hoffmann, M.R. and Keck, W.M., 1988: Henry's law constants of some environmentally important aldehydes. *Environmental Science and Technology* 22, 1415-1418.

Bielski, B.H.J., Cabelli, D.E., Arudi, R.L. and Ross, A.B., 1985: Reactivity of HO_2/O_2^- radicals in aqueous solution. *Journal of Physical Chemistry Reference Data* 14, 1041-1100.

Bouwman, A.F., Lee, D.S., Asman, W.A.H., Dentener, F.J. Van Der Hoek, K.W. and Olivier, J.G.J., 1997: A global high-resolution emission inventory of ammonia. *Global Biogeochemical Cycles* 11, 561-567.

Brandt, C. and Elding, L.I., 1998: Role of chromium and vanadium in the atmospheric oxidation of sulfur(IV). *Atmospheric Environment* 32(4), 797-800.

Braziewicz, J., Kownacka, L., Majewska, U., and Korman, A., 2004: Elemental concentrations in tropospheric and lower stratospheric air in a Northeastern region of Poland. *Atmospheric Environment* 38, 1989-1996.

Bridges, K.S., Jickells, T.D., Davies, T.D., Zeman, Z. and Hunova, I., 2002: Aerosol, precipitation and cloud water chemistry observations on the Czech Krusne Hory plateau adjacent to a heavily industrialised valley. *Atmospheric Environment* 36, 353-360.

Brüggemann, E., Gnauk, T., Mertes, S., Acker, K., Auel, R., Wieprecht, W., Möller, D., Collett, J.L., Chang, H., Galgon, D., Chemnitzer, R., Rüd, C., Junek, R., Wiedensolher, W. and Herrmann, H., 2005: Schmücke hill cap cloud and valley stations aerosol characterisation during FEBUKO (I): Particle size distribution, mass, and main components. *Atmospheric Environment* 39, 4291-4303.

Buxton, G.V., Greenstock, C.L., Helman, W.P. and Ross, A.B., 1988: Critical review of rate constants for reactions of hydrated electrons, hydrogen atoms and hydroxyl radicals ($\bullet\text{OH}/\bullet\text{O}$) in aqueous solution. *Journal of Chemical Reference Data* 17(2), 513-886.

Cape, J.N., Hargreaves, K.J., Storeton-West, R., Fowler, D., Golville, R.N., Choularton, T.W. and Gallagher, M.W., 1992: Nitrite in orographic cloud as an indicator of nitrous acid in rural air. *Atmospheric Environment part A General Topics* 26(13), 2301-2307.

Cape, J.N., Hargreaves, K.J., Storeton-West, R.L, Jones, B., Davies, T, Colvile, R.N., Gallagher, M.W., Choularton, T.W., Pahl, S., Berner, A., Kruisz, C., Bizjack, M., Laj, P., Facchini, M.C., Fuzzi, S., Arends, B.G., Acker, K., Wieprecht, W., Harrison, R.M. and Peak, J.D., 1997: The budget of oxidised nitrogen species in orographic clouds. *Atmospheric Environment* 31(16), 2625-2636.

Chebbi, A. and Carlier, P., 1996: Carboxylic acids in the troposphere, occurrence, sources, and sinks: A review. *Atmospheric Environment* 30(24), 4233-4249.

Chen, Y., Street, J. and Paytan, A., 2006: Comparison between pure-water- and seawater-soluble nutrient concentrations of aerosols from the Gulf of Aqaba. *Marine Chemistry* 101, 141-152.

Chérif, S., Millet, M., Samusi, A., Herckes, P. and Wortham, H., 1998: Protocol for analysis of trace metals and other ions in filtered and unfiltered fogwater. *Environmental Pollution* 103, 301-308.

Chester, R., Nimmo, M. and Corcoran, P.A., 1997: Rain water-aerosol trace metal relationships at Cap Ferrat: A coastal site in the Western Mediterranean. *Marine Chemistry* 58, 293-312.

Chester, R., Nimmo, M., and Preston, M.R., 1999: The trace metal chemistry of atmospheric dry deposition samples collected at Cap Ferrat: a coastal site in the Western Mediterranean. *Marine Chemistry* 68, 15-30.

Chester, R., Nimmo, M., Fones, G.R., Keyse, S. and Zhang, J., 2000: The solubility of Pb in coastal marine rainwaters: pH-dependent relationships. *Atmospheric Environment* 34, 3875-3887.

Chester, R., Nimmo, M., Fones, G.R., Keyse, S., and Zhang, Z., 2000: Trace metal chemistry of particulate aerosols from the UK mainland coastal rim of the NE Irish sea. *Atmospheric Environment* 34, 949-958.

Chevallier, E., Durand, J., Jolibois, R., Meunier, N., Carlier, P. and Monod, A., 2004: "Fenton-like" reactions of methylhydroperoxide and ethylhydroperoxide with Fe^{2+} in liquid aerosols under tropospheric conditions. *Atmospheric Environment* 38, 921-933.

Chin, M., Jacob, D.J., Gardner, G.M., Foreman-Fowler, M.S. and Spiro, P.A., 1996: A global three-dimensional model of tropospheric sulphate. *Journal of Geophysical Research* 101, 18667-18690.

Choël, M., Deboudt, K., Flament, P., Lecornet, G., Perdrix, E. and Sobanska, S., 2006: Fast evolution of tropospheric Pb- and Zn-rich particles in the vicinity of a lead smelter. *Atmospheric Environment* 40, 4439-4449.

Chung, M.Y., Muthana, S., Palayo, R.N. and Hasson, A.S, 2005: Measurements of effective Henry's law constant for hydrogen peroxide in concentrated salt solutions. *Atmospheric Environment* 39, 2981-2989.

Cicerone, R.J., 1981: Halogens in the atmosphere. *Review of Geophysics* 19, 123-139.

Cini, R., Prodi, F., Santachiara, G., Porci, F., Bellandi, S., Stortini, A.M., Oppo, C., Udisti, R. And Pantoni, F., 2002: Chemical characterization of cloud episodes at a ridge site in Tuscan Appennines, Italy. *Atmospheric Research* 61, 311-334.

Clarke, A.G. and Radojevic, M., 1987: Oxidation of SO₂ in rainwater and its role in acid rain chemistry. *Atmospheric Environment* 21, 1115-1123.

Collett, J.Jr, Iovinelli, R. And Demoz, B., 1995: A three-stage cloud impactor for size-resolved measurement of cloud drop chemistry. *Atmospheric Environment* 29(10), 1145-1154.

Collett, J.L.Jr., Hoag, K.J., Rao, X. and Pandis, S.N., 1999: Internal acid buffering in San Joaquin Valley fog drops and its influence on aerosol processing. *Atmospheric Environment* 33, 4833-4847.

Collet, J.L.Jr., Bator, A., Sherman, D.E., Moore, K.F., Hoag, K.J., Demoz, B.B., Rao, X. and Reilly, J.E., 2002: The chemical composition of fogs and intercepted clouds in the United States. *Atmospheric Research* 64, 29-40.

Crahan, K.K., Hegg, D., Covert, D.S. and Jonsson, H., 2004: An exploration of aqueous oxalic acid production in the coastal marine atmosphere. *Atmospheric Environment* 38, 3757-3764.

Crutzen, P.J., Williams, J., Pöschl, U., Hoor, P., Fischer, H., Warnecke, C., Holzinger, R., Hansel, A., Lindinger, W., Sheeren, B. and Lelieveld, J., 2000: High spatial and temporal resolution measurements of primary organics and their oxidation products over the tropical forests of Surinam. *Atmospheric Environment* 34, 1161-1165.

Decesari, S., Facchini, M.C., Matta, E., Lettini, F., Mircea, M., Fuzzi, S., Tagliavini, E. and Putaud, J.P., 2001: Chemical features and seasonal variation of the fine aerosol water-soluble organic compounds in the Po Valley, Italy. *Atmospheric Environment* 35, 3691-3699.

Decesari, S., Facchini, M.C., Matta, E., Mircea, M., Fuzzi, S., Chughtai, A.R. and Smith, D.M., 2002: Water soluble organic compounds formed by oxidation of soot. *Atmospheric Environment* 36, 1827-1832.

Decesari, S., Facchini, M.C., Fuzzi, S., McFiggans, G.B., Coe, H. And Bower, K.N., 2005: The water-soluble organic component of size-segregated aerosol, cloud water and wet depositions from Jeju Island during ACE-Asia. *Atmospheric Environment* 39, 211-222.

Deguillaume, L., Leriche, M., Monod, A. and Chaumerliac, N., 2004: The role of transition metal ions on HO_x radicals in clouds: A numerical evaluation of its impact on multiphase chemistry. *Atmospheric Chemistry and Physics* 4, 95-110.

Deguillaume, L., Leriche, M., Desboeufs, K., Mailhot, G., George, C. and Chaumerliac, N., 2005: Transition Metals in Atmospheric Liquid Phases: Sources, Reactivity and Sensitive Parameters. *Chemical Review* 105, 3388-3431.

Delort, A.M., 2006: Use of NMR to study *in situ* bioconversion of gaseous compounds. Gas resources for resource recovery. Lens. P. Ed. IWA Publishing, London, Chapter 9, 117-131.

Deng, Y. and Zuo, Y., 1999: Factors affecting the levels of hydrogen peroxide in rainwater. *Atmospheric Environment* 33, 1469-1478.

Desboeufs, K.V., Losno, R., and Colin, J.L., 2001: Factors influencing aerosol solubility during cloud processes. *Atmospheric Environment* 35, 3529-3537.

Desboeufs, K.V., Sofikitis, A., Losno, R., Colin, J.L. and Ausset, P., 2005: Dissolution and solubility of trace metals from natural and anthropogenic aerosol particulate matter. *Chemosphere* 58, 195-203.

Deutsch, F., Hoffmann, P. and Ortner, H.M., 2001: Field experimental investigation on the Fe(II)- and Fe(III)-content in cloudwater samples. *Journal of Atmospheric Chemistry* 40, 87-105.

Dibb, J.E., Talbot, R.W., Whitlow, S.I., Shipham, M.C., Winterle, J., McConell, J. and Bales, R., 1996: Biomass burning signatures in the atmosphere and snow at Summit, Greenland: an event on 5 august 1994. *Atmospheric Environment* 30(4), 553-561.

Draxler, R.R. and Rolph, G.D., 2003: HYSPLIT (HYbrid Single-Particle Lagrangian Integrated Trajectory) Model access via NOAA ARL READY Website (<http://www.arl.noaa.gov/ready/hysplit4.html>). NOAA Air Resources Laboratory, Silver Spring, MD.

Dulin, D. and Mill, T., 1982: Development and evaluation of sunlight actinometers. *Environmental Science and Technology* 16, 815-820.

Elbert, W., Hoffmann, M.R., Krämer, M., Schmitt, G. And Andreae, M.O., 2000: Control of solute concentrations in cloud and fog water by liquid water content. *Atmospheric Environment* 34, 1109-1122.

Erel, Y., Pehkonen, S.O. and Hoffmann, M.R., 1993: Redox chemistry in fog and stratus clouds. *Journal of Geophysical Research* 98(D10), 18423-18434.

Ervens, B., Gligorovski, S. and Herrmann, H., 2003(a): Temperature-dependent rate constants for hydroxyl radical reactions with organic compounds in aqueous solutions. *Physical Chemistry Chemical Physics* 5, 1811-1824.

Ervens, B., George, C., Williams, J.E., Boxton, G.V., Salmon, G.A., Bydder, M., Wilkinson, F., Dentener, F., Mirabel, P., Wolke, R. and Herrmann, H., 2003(b): CAPRAM2.4 (MODAC mechanism): An extended and condensed tropospheric aqueous phase mechanism and its application. *Journal of Geophysical Research* 108(D14), doi: 10.1029/2002JD002202.

Ervens, B., Hercke, P., Feingold, G., Lee, T., Collett, J.R. and Kreidenweis, S.M., 2003(c): On the drop-size dependence of organic acid and formaldehyde concentrations in fog. *Journal of Atmospheric Chemistry* 46, 239-269.

Ervens, B., Feingold, G., Frost, C.J. and Kreidenweis, S.M., 2004(a): A modelling study of aqueous production of dicarboxylic acids: 1. Chemical pathways and speciated organic mass production. *Journal of Geophysical Research* 109(D15205), doi: 10.1029/2003JD004387.

Ervens, B., Feingold, G., Clegg, S.L. and Kreidenweiss, S.M., 2004(b): A modelling study of aqueous production of dicarboxylic acids: 2. Implications for cloud microphysics. *Journal of Geophysical Research* 109(D15206), doi: 10.1029/2004JD004575.

Faust, B.C. and Hoigné, J., 1990: Photolysis of Fe (III)-hydroxy complexes as sources of OH radicals in clouds, fog and rain. *Atmospheric Environment* 24A(1), 79-89.

Faust, B.C., Powell, K., Rao, C.J. and Anastasio, C., 1997: Aqueous-phase photolysis of biacetyl (an α -dicarbonyl compound): A sink for biacetyl and a source of acetic acid, peroxyacetic acid, hydrogen peroxide, and a highly oxidizing acetylperoxyl radical in aqueous aerosols, fogs, and clouds. *Atmospheric Environment* 31(3), 497-510.

Fernández Espinosa, A.J., Ternero Rodríguez, M., Barragán de la Rosa, F.J. and Jiménez Sánchez, J.C, 2001: Size distribution of metals in urban aerosols in Seville (Spain). *Atmospheric Environment* 35, 2595-2601.

Fernández Espinosa, A.J., Ternero Rodríguez, M., Barragán de la Rosa, F.J. and Jiménez Sánchez, J.C, 2002: A chemical speciation of trace metals for fine urban particles. *Atmospheric Environment* 36, 773-780.

Ferrari, C.P., Kaluzny, P., Roche, A., Jacob, V. and Foster, P., 1998: Aromatic hydrocarbons and aldehydes in the atmosphere of Grenoble, France. *Chemosphere* 37(8), 1587-1601.

Fick, J., Pommer, L., Nilsson, C. and Andersson, B., 2003: Effect of OH radicals, relative humidity, and time on the composition of the products formed in the ozonolysis of α -pinene. *Atmospheric Environment* 37, 4087-4096.

Finlayson-Pitts, B.J. and Pitts, J.N.Jr., 2000: Chemistry of the upper and lower atmosphere. Academic Press, San Diego.

Flynn, C.M.Jr, 1984: Hydrolysis of inorganic iron(III) salts. *Chemical Review* 84(1), 31-41.

Fornaro, A. and Gutz, I.G.R., 2003: Wet deposition and related atmospheric chemistry in the São Paulo metropolis, Brazil: Part 2-Contribution of formic and acetic acids. *Atmospheric Environment* 37, 117-128.

Franch, M.I., Ayllón, J.A., Peral, J. and Domènech, X., 2004: Fe(III) photocatalyzed degradation of low chain carboxylic acids implications of the iron salt. *Applied Catalysis B: Environmental* 50, 89-99.

François, F., Maenhaut, W., Colin, J-L., Losno, R., Schulz, M., Stahlschmidt, T., Spokes, L. and Jickells, T., 1995: Intercomparison of elemental concentrations in total and size-fractionated aerosol samples collected during the Mace Head experiment, April 1991. *Atmospheric Environment* 29(7), 837-849.

François, S., Sowka, I., Monod, A., Temime-Roussel, B., Laugier, J.M. and Wortham, H., 2005: Development of an online analyzer of atmospheric H₂O₂ and several organic hydroperoxides for field campaigns. *Atmospheric Research* 74, 525-545.

Freydier, R., Dupre, B. and Lacaux, J.P., 1998: Precipitation chemistry in intertropical Africa. *Atmospheric Environment* 32(4), 749-765.

Fuzzi, S., Mandrioli, P. and Perfetto, A., 1997: Fog droplets, an atmospheric source for secondary biological aerosol particles. *Atmospheric Environment* 31(2), 287-290.

Fuzzi, S., Facchini, M.C., Decesari, S., Matta, E. and Mircea, M., 2002: Soluble organic compounds in fog and cloud droplets: what have we learned over the past few years? *Atmospheric Research* 64, 89-98.

Gatari, M.J., Boman, J., and Maina, D.M., 2001: Inorganic element concentrations in near surface aerosols sampled on the northwest slopes of Mount Kenya. *Atmospheric Environment* 35, 6015-6019.

Gaudichet, A., Echalar, F., Chatenet, B., Quisefit, J.P., Malingre, G., Cachier, H., Buat-Ménard, P., Artaxo, P. and Maenhaut, W., 1995: Trace element in tropical African savanna biomass burning aerosols. *Journal of Atmospheric Chemistry* 22, 19-39.

Germani, M.S. and Zoller, W.H., 1994: Solubilities of elements on in-stack suspended particles from a municipal incinerator. *Atmospheric Environment* 28, 1393-1400.

Ghauri, B.M., Mirza, M.I., Richter, R., Dutkiewicz, V.A., Rusheed, A., Khan, A.R. and Husain, L., 2001: Composition of aerosols and cloud water at a remote mountain site (2.8 kms) in Pakistan. *Chemosphere – Global Change Science* 3, 51-63.

Giebl, H., Berner, A., Reischl, G., Puxbaum, H., Kasper-Giebl, A. and Hitzenberger, R., 2002: CCN activation of oxalic and malonic acid test aerosols with the University of Vienna cloud condensation nuclei counter. *Aerosol Science* 33, 1623-1634.

Golden, D.M., Bierbaum, V.M. and Howard, C.J., 1990: Comments on "Reevaluation of the bond-dissociation energies (ΔH_{DBE}) for H-OH, H-OOH, H-OO- and H-OO". *Journal of Physical Chemistry* 94, 5413-5415.

Gray, C.W., McLaren, R.G., and Roberts, H.C., 2003: Atmospheric accessions of heavy metals to some New Zealand pastoral soils. *The Science of the Total Environment* 305, 105-115.

Guerzoni, S., Molinaroli, E. and Chester, R., 1997: Saharan dust inputs to the western Mediterranean Sea: depositional patterns, geochemistry and sedimentological implications. *Deep-Sea Research II* 44(3-4), 631-654.

Guieu, C., Chester, R., Nimmo, M., and Martin, J-M., 1997: Atmospheric input of dissolved and particulate metals to the northwestern Mediterranean. *Deep-Sea Research II* 44(3-4), 655-674.

Güsten, H., 1999: Predicting the abiotic degradability of organic pollutants in the troposphere. *Chemosphere* 38(6), 1361-1370.

Hanson, D.R., Burkholder, J.B., Howard, C.J. and Ravishankara, A.R., 1992: Measurement of OH and HO₂ radical uptake coefficients on water and sulphuric acid surfaces. *Journal of Physical Chemistry* 96, 4979-4985.

Hanson, A.K., Tindale, N.W. and Abdel-Moati, M.A.R., 2001: An Equatorial Pacific rain event: influence on the distribution of iron and hydrogen peroxide in surface waters. *Marine Chemistry* 75, 69-88.

Harrison, M.A.J., Barra, S., Borghesi, D., Vione, D., Arsene, C. and Olario, R.I., 2002: Nitrated phenols in the atmosphere: a review. *Atmospheric Environment* 39, 231-248.

Herckes, P., Hannigan, M.P., Trenary, L., Lee, T. and Collett, J.L.Jr., 2002: Organic compounds in radiation fogs in Davis (California). *Atmospheric Research* 64, 99-108.

Herlihy, L.J., Galloway, J.N. and Mills, A.L., 1987: Bacterial utilization of formic and acetic acid in the rainwater. *Atmospheric Environment* 21, 2397-2402.

Herrmann, H., Ervens, B., Jacobi, H.W., Wolke, R., Nowacki, P. and Zellner, R., 2000: CAPRAM2.3: A chemical aqueous phase radical mechanism for tropospheric chemistry. *Journal of Atmospheric Chemistry* 36, 231-284.

Herrmann, H., 2003: Kinetics of aqueous phase reactions relevant for atmospheric chemistry. *Chemical Review* 103, 4691-4716.

Herrmann, H., Tilgner, A., Barzaghi, P., Majdik, Z., Gligorovski, S., Poulain, L. and Monod, A., 2005: Toward a more detailed description of tropospheric aqueous phase organic chemistry: CAPRAM3.0. *Atmospheric Environment* 39, 4351-4363.

Herut, B., Nimmo, M., Medway, A., Chester, R., and Krom, M.D., 2001: Dry atmospheric inputs of trace metals at the Mediterranean coast of Israel (SE Mediterranean): sources and fluxes. *Atmospheric Environment* 35, 803-813.

Hewitt, C.N. and Kok, G.L., 1991: Formation and occurrence of organic hydroperoxydes in the troposphere: Laboratory and field observation. *Journal of Atmospheric Chemistry* 12(2), 181-194.

Hill, K.A., Shepson, P.B., Galbavy, E.S., Anastasio, C., Kourtev, P.S., Konopka, A. and Stirm, B.H., 2007: Processing of atmospheric nitrogen by clouds above a forest environment. *Journal of Geophysical Research* 112, doi: 10.1029/2006JD008002.

Ho, K.F., Lee, S.C., Cao, J.J., Kawamura, K., Watanabe, T., Cheng, Y. and Chow, J.C., 2006: Dicarboxylic acids, ketocarboxylic acids and dicarbonyls in the urban roadside area of Hong Kong. *Atmospheric Environment* 40, 3030-3040.

Hoffmann, P., Dedik, A.N., Ensling, J., Weinbruch, S., Weber, S., Sinner, T., Gütlich, P., and Ortner, H.M., 1996: Speciation of iron in atmospheric aerosol samples. *Journal of Aerosol Science* 27(2), 325-337.

Hoffmann, P., Dedik, A.N., Deutsch, F., Sinner, T., Weber, S., Eichler, R., Sterkel, S., Sastri, C.S., and Ortner, H.M., 1997: Solubility of single chemical compounds from an atmospheric aerosol in pure water. *Atmospheric Environment* 31(17), 2777-2785.

Holland, H.D., 1978: The chemistry of the atmosphere and ocean. Wiley-interscience, New York Chap. 5, 153-249.

Idriss, H., Miller, A. and Seebauer E.G., 1997: Photoreactions of ethanol and MTBE on metal oxide particles in the troposphere. *Catalysis Today* 33, 215-225.

Isidorov, V., Klokova, E., Povarov, V. and Kolkova, S., 1997: Photocatalysis on atmospheric aerosols: Experimental studies and modelling. *Catalysis Today* 39, 233-242.

Jaffrezo, J.L., Colas, N. and Bouchet, M., 1998: Carboxylic acids measurements with ionic chromatography. *Atmospheric Environment* 32(14-15), 2705-2708.

Jans, U. and Hoigné, J., 2000: Atmospheric water: transformation of ozone into OH-radicals by sensitized photoreactions or black carbon. *Atmospheric Environment* 34, 1069-1085.

Jayson, G.G., Parson, B.J. and Swallow, A.J., 1973: Oxidation of ferrous ions by perhydroxyl radicals. *Journal of the Chemical Society. Faraday Transactions* 69, 236-242.

Karpel Vel Leitner, N. and Doré, M., 1996: Hydroxyl radical induced decomposition of aliphatic acids in oxygenated and deoxygenated aqueous solutions. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 99, 137-143.

Karpel Vel Leitner, N. and Doré, M., 1997: Mécanisme d'action des radicaux OH[•] sur les acides glycolique, glyoxylique, acétique et oxalique en solution aqueuse: incidence sur la consommation de peroxyde d'hydrogène dans les systèmes H₂O₂/UV et O₃/H₂O₂. *Water Research* 31(6), 1383-1397.

Kasper-Giebel, A., Koch, A., Heitzenberg, R. and Puxbaum, H., 2000: Scavenging efficiency of 'aerosol carbon' and sulfate in super cooled clouds at Mount Sonnblick (3106 m a.s.l., Austria). *Journal of Atmospheric Chemistry* 35, 33-46.

Kawamura, K. and Kasukabe, H., 1996: Source and reaction pathways of dicarboxylic acids, ketoacids and dicarbonyls in arctic aerosols: One year of observations. *Atmospheric Environment* 30(10/11), 1709-1722.

Kawamura, K. and Yasui, O., 2005: Diurnal changes in the distribution of dicarboxylic acids, ketocarboxylic acids and dicarbonyls in the urban Tokyo atmosphere. *Atmospheric Environment* 39, 1945-1960.

Kawamura, K., Steinberg, S. and Kaplan, I.R., 1996: Concentrations of monocarboxylic and dicarboxylic acids and aldehydes in southern California wet precipitations: comparison of urban and non urban samples and compositional changes during scavenging. *Atmospheric Environment* 30(7), 1035-1052.

Kawamura, K., Steinberg, S., Ng, L. And Kaplan, I.R., 2001: Wet deposition of low molecular weight mono- and di-carboxylic acids, aldehydes and inorganic species in Los Angeles. *Atmospheric Environment* 35, 3917-3926.

Kawamura, K., Imai, Y. and Barrie, L.A., 2005: Photochemical production and loss of organic acids in high Arctic aerosols during long-range transport and polar sunrise ozone depletion events. *Atmospheric Environment* 39, 599-614.

Keene, W.C. and Galloway, J.N., 1986: Considerations regarding sources for formic and acetic acids in the troposphere. *Journal of Geophysical Research* 91, 14466-14474.

Khan, I., Brimblecombe, P. and Clegg, S.L., 1995: Solubilities of pyruvic acid and the lower ($C_1 - C_6$) carboxylic acids. Experimental determination of equilibrium vapour pressures above pure aqueous and salt solutions. *Journal of atmospheric Chemistry* 22, 285-302.

Khare, P., Satsangi, G.S., Kumar, N., Maharaj Kumari, K. and Srivastava, S.S., 1997: HCHO, HCOOH and CH₃COOH in air and rain water at a rural tropical site in north central India. *Atmospheric Environment* 31(23), 3867-3875.

Khwaja, H.A., Brudnoy, S. And Husain, L., 1995: Chemical characterization of three summer cloud episodes at whiteface mountain. *Chemosphere* 31(5), 3357-3381.

Khwaja, H.A., 1995: Atmospheric concentrations of carboxylic acids and related compounds at a semiurban site. *Atmospheric Environment* 29(1), 127-139.

Kieber, R.J., Rhines, M.F., Willey, J.D and Avery, G.B.Jr., 1999: Rainwater formaldehyde: Concentration, deposition and photochemical formation. *Atmospheric Environment* 33, 3659-3667.

Kim, G.H., Kreidenweis, S.M., Feingold, G., Anlauf, K.G. and Leaitch, W.R., 2006: Measurement and interpretation of cloud effects on the concentrations of hydrogen peroxide and organoperoxides over Ontario, Canada. *Atmospheric Research* 81, 140-149.

Koch, S., Winterhalter, R., Uherek, E., Koloff, A., Neeb, P. and Moortgat, G.K., 2000: Formation of new particles in the gas-phase ozonolysis of monoterpenes. *Atmospheric Environment* 34, 4031-4042.

Kopcewicz, B. and Kopcewicz M., 2001: Long-term measurements of iron-containing aerosols by Mössbauer spectroscopy in Poland. *Atmospheric Environment* 35, 3739-3747.

Krivácsy, Z., Kiss, Gy., Varga, B., Galambos, I., Sárvári, Zs., Gelencsér, A., Molnár, Á., Fuzzi, S., Facchini, M.C., Zappoli, S., Andracchio, A., Alsberg, T., Hansson, H.C. and Persson, L., 2000: Study of humic-like substances in fog and interstitial aerosol by size-exclusion chromatography and capillary electrophoresis. *Atmospheric Environment* 34, 4273-4281.

Kruisz, C., Berner, A. and Brantner, B., 1993: A cloud water sampler for high wind speeds. *Proceeding of the EUROTRAC Symposium, 1992*. SPB Academic, The Hague, The Netherlands, 523-525.

Krupa, S.V., 2002: Sampling and physico-chemical analysis of precipitation: a review. *Environmental pollution* 120, 565-594.

Kundra, S.K., Katyal, M. and Singh, R.P., 1974: Spectrophotometric determination of copper(I) and cobalt(II) with ferrozine. *Analytical Chemistry* 46(11), 1605.

Lafon, S., Rajot, J-L., and Alfano, S., 2004: Quantification of iron oxides in desert aerosol. *Atmospheric Environment* 38, 1211-1218.

Laj, P., Fuzzi, S., Facchini, M.C., Lind, J.A., Orsi, G., Preiss, M., Maser, R., Jaeschke, W., Seyffer, E., Helas, G., Acker, K., Wieprecht, W., Möller, D., Arends, B.G., Möls, J.J., Colvile, R.N., Gallagher, M.W., Beswick, K.M., Hargreaves, K.J., Storeton-West, R.L. and Sutton, M.A., 1997: Cloud processing of soluble gases. *Atmospheric Environment* 31(16), 2589-2598.

Laj, P., Flossmann, A.I., Wobrock, W., Fuzzi, S., Orsi, G., Ricci, L., Mertes, S., Schwarzenböck, A., Heintzenberg, J. and Ten Brink, H., 2001: Behaviour of H₂O₂, NH₃ and black carbon in mixed-phase clouds during CIME. *Atmospheric Research* 58, 315-336.

Langford, O.A., Fehsenfeld, F.C., Zachariassen, J. and Schimel, D.S., 1992: Gaseous ammonia fluxes and background concentrations in terrestrial ecosystems of the United States. *Global Biogeochemical Cycles* 6, 459-483.

Ledoux, F., Zhilinskaya, E.A., Courcot, D., Aboukaïs, A. and Puskaric, E., 2004: EPR investigation of iron in size segregated atmospheric aerosols collected at Dunkerque, Northern France. *Atmospheric Environment* 38, 1201-1210.

Ledoux, F., Laversin, H., Courcot, D., Courcot, L., Zhilinskaya, E.A., Puskaric, E. and Aboukaïs, A., 2006(a): Characterization of iron and manganese species in atmospheric aerosols from anthropogenic sources. *Atmospheric Environment* 40, 622-632.

Ledoux, F., Courcot, L., Courcot, D., Aboukaïs, A. and Puskaric, E., 2006(b): A summer and winter apportionment of particulate matter at urban and rural areas in northern France. *Atmospheric Research* 82, 633-642.

Lee, M., Heikes, B.G. and O'Sullivan, D.W., 2000: Hydrogen peroxide and organic hydroperoxide in the troposphere: A review. *Atmospheric Environment* 34, 3475-3494.

Legrand, M. and Delmas, R., 1988: Formation of HCl in the Antarctic atmosphere. *Journal of Geophysical Research* 93, 7153-7168.

Legrand, M., Preunkert, S., Wagenbach, D. and Fischer, H., 2002: Seasonally resolved Alpine and Greenland ice core records of anthropogenic HCl emissions over the 20th century. *Journal of Geophysical Research* 107(D12), doi: 10.1029/2001JD001165.

Legrand, M., Preunkert, S., Wagenbach, D., Cachier, H. and Puxbaum, H., 2003: A historical record of formate and acetate from a high-elevation Alpine glacier: implications for their natural versus anthropogenic budgets at the European scale. *Journal of Geophysical Research* 108(D24), doi: 10.1029/2003JD003594.

Legrand, M., Preunkert, S., Galy Lacaux, C. Lioussé, C. and Wagenbach, D., 2005: Atmospheric year-round records of dicarboxylic acids and sulphate at three French sites located between 630 and 4360 m elevation. *Journal of Geophysical Research* 110(D13302), doi: 10.1029/2004JD005515.

Legrand, M., Preunkert, S., Oliveira, T., Pio, C.A., Hammer, S., Gelencsér, A., Kasper-Giebl, A. and Laj, P., 2007: Origin of C₂-C₅ dicarboxylic acids in the European atmosphere inferred from year-round aerosol study conducted at a west-east transect. *Journal of Geophysical Research* 112(D23S07), doi: 10.1029/2006JD008019.

Leriche, M., Voisin, D., Chaumerliac, N., Monod, A. and Aumont, B., 2000: A model for tropospheric multiphase chemistry: Application to one cloudy event during CIME experiment. *Atmospheric Environment* 34, 5015-5036.

Leriche, M., Chaumerliac, N. and Monod, A., 2001: Coupling quasi-spectral microphysics with multiphase chemistry: a case study of a polluted air mass at the top of the puy de Dôme mountain (France). *Atmospheric Environment* 35, 5411-5423.

Leriche, M., Deguillaume, L. and Chaumerliac, N., 2003: Modeling study of strong acids formation and partitioning in a polluted cloud during wintertime. *Journal of Geophysical Research* 108(D14), doi: 10.1029/2002JD002950.

Leriche, M., Curier, R.L., Deguillaume, L., Caro, D., Sellegri, K. And Chaumerliac, N., 2007: Numerical quantification of sources and phase partitioning of chemical species in cloud: application to wintertime anthropogenic air masses at the puy de Dôme station. *Journal of Atmospheric Chemistry* 57, 281-297.

Lim, H.J., Carlton, A.G. and Turpin, B.J., 2005: Isoprene forms secondary organic aerosol through cloud processing: Model simulations. *Environmental Science and Technology* 39, 4441-4446.

Lim, McK.C.H., Ayoko, G.A., Morawska, L., Ristovski, Z.D., Jayaratne, E.R. and Kokot, S., 2006: A comparative study of the elemental composition of the exhaust emissions of cars powered by liquefied petroleum gas and unleaded petrol. *Atmospheric Environment* 40, 3111-3122.

Löflund, M., Kasper-Giebl, A., Shuster, B., Giebl, H., Hitzenberger, R. And Puxbaum, H., 2002: Formic, acetic, oxalic, malonic and succinic acid concentrations and their contribution to organic carbon in cloud water. *Atmospheric Environment* 36, 1553-1558.

Machado, F. and Boule, P., 1995: Photonitration and photonitrosation of phenolic derivatives induced in aqueous solution by excitation of nitrite and nitrate ions. *Journal of photochemistry and photobiology A: Chemistry* 86, 73-80.

Mancinelli, V., Rinaldi, M., Finessi, E., Emblico, L., Mircea, M., Fuzzi, S., Facchini, M.C. and Decesari, S., 2007: An anion-exchange high-performance liquid chromatography method coupled to total organic carbon determination for the analysis of water-soluble organic aerosols. *Journal of Chromatography A* 1149, 385-389.

Marinoni, A., Laj, P., Sellegri, K. and Mailhot, G., 2004: Cloud chemistry at the Puy de Dôme: variability and relationships with environmental factors. *Atmospheric Chemistry and Physics* 4, 715-728.

McCulloch, A., Aucott, M.L., Benkovitz, C.M., Graedel, T.E., Kleiman, G., Midgley, P.M. and Li, Y-F., 1999: Global emissions of hydrogen chloride and chloromethane from coal combustion, incineration and industrial activities: Reactive chlorine emissions inventory. *Journal of Geophysical Research* 104(D7), 8391-8403.

McElroy, W.J. and Waygood, S.J., 1991: Oxidation of formaldehyde by the hydroxyl radical in aqueous solution. *Journal of the Chemical Society. Faraday Transactions* 87(N10), 1513-1521.

Michaelis, L. and Hill, E. S., 1933: Potentiometric studies on semiquinones. *Journal of American Chemical Society* 55, 1481-1495.

Mill, A.J.B., 1980: Colloidal and macromolecular forms of iron in natural waters 1: A review. *Environmental Technology Letters* 1, 97-108.

Millet, M., Wortham, H. and Mirabel, P.H., 1995: Solubility of polyvalent cations in fogwater at an urban site in Strasbourg (France). *Atmospheric Environment* 29(19), 2625-2631.

Minero, C., Maurino, V., Bono, F., Pelizzeh, E., Marinoni, A., Mailhot, G., Carlotti, M.E. and Vione, D., 2007: Effect of selected organic and inorganic snow and cloud components on the photochemical generation of nitrite by nitrate irradiation. *Chemosphere* 68, 2111-2117.

Miranda, J., Barrera, V.A., Espinosa, A.A., Galindo, O.S., Núñez-Orosco, A., Montesinos, R.C., Leal-Castro, A. and Meinguer, J., 2004: PIXE analysis of atmospheric aerosols from three sites in Mexico City. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 219-220, 157-160.

Monod, A., Chebbi, A., Durand-Jolibois, R. and Carlier, P., 2000: Oxidation of methanol by hydroxyl radicals in aqueous solution under simulated cloud droplet conditions. *Atmospheric Environment* 34, 5283-5294.

Monod; A., Chevalier, E., Durand Jolibois, R., Doussin, J.F., Picquet-Varrault, B. and Carlier, P., 2007: Photooxidation of methylhydroperoxide and ethylhydroperoxide in the aqueous phase under simulated cloud droplet conditions. *Atmospheric Environment* 41, 2412-2426.

Montero, L., Vasconcellos, P.C., Souza, S.R., Pires, M.A.F., Sanchez-ccoillo, O.R., Andrade, M.F. and Carvalho, L.R.F., 2001: Measurements of atmospheric carboxylic acids and carbonyl compounds in São Paulo city, Brazil. *Environmental Science and Technology* 35, 3071-3081.

Moore, K.F., Sherman, D.E., Reilly, J.E. and Collett, J.L.Jr., 2004: Drop size-dependent chemical composition in clouds and fogs. Part I. Observations. *Atmospheric Environment* 38, 1389-1402.

Motyka, K., Mikuška, P. and Večeřa, Z., 2006: Continuous chemiluminescence determination of formaldehyde in air based on Trautz-Shorigin reaction. *Analytica Chimica Acta* 562, 236-244.

Narukawa, M., Kawamura, K., Li, S-M. And Botteheim, J.W., 2002: Dicarboxylic acids in the Artic aerosols and snowpacks collected during ALERT 2000. *Atmospheric Environment* 36, 2491-2499.

Neeb, P., Sauer, F., Horie, O. And Moortgat, G.K., 1997: Formation of hydroxymethyl hydroperoxide and formic acid in alkene ozonolysis in the presence of water vapour. *Atmospheric Environment* 31(10), 1417-1423.

Neta, P., Huie, R.E. and Ross, A.B., 1988: Rate constants for reactions of inorganic radicals in aqueous solution. *Journal of Physical and Chemical Reference Data* 17(3), 1027-1284.

O'Sullivan, D.W., Lee, M., Noone, B.C. and Heikes, B.G., 1996: Henry's law constant determinations for hydrogen peroxide, methyl hydroperoxide, hydroxymethyl hydroperoxide, ethyl hydroperoxide, and peroxyacetic acid. *Journal of Physical Chemistry* 100, 3241-3247.

Odabasi, M. and Seyfioglu, R., 2005: Phase partitioning of atmospheric formaldehyde in a suburban atmosphere. *Atmospheric Environment* 39, 5149-5156.

Okita, T., Ohta, S., Uchigama, M., Abe, J. and Nambu, Y., 1983: Determination of air-water Henry's law constants for low concentration of hydrogen peroxide and aldehydes. *Journal of Japan Society of Air Pollution* 18, 491-495.

Ooki, A., Uematsu, M., Miura, K. and Nakae, S., 2002: Sources of sodium in atmospheric fine particles. *Atmospheric Environment* 36, 4367-4374.

Oros, D.R. and Simoneit, B.R.T., 2001(a): Identification and emission factors of molecular tracers in organic aerosols from biomass burning Part 1. Temperate climate conifers. *Applied Geochemistry* 16, 1513-1544.

Oros, D.R. and Simoneit, B.R.T., 2001(b): Identification and emission factors of molecular tracers in organic aerosols from biomass burning Part 2. Deciduous trees. *Applied Geochemistry* 16, 1545-1565.

Pacyna, J.M., 1986: Atmospheric trace elements from natural and anthropogenic sources. Toxic metals in the atmosphere. Nriagu, J.O. and Davidson, C.I., Wiley series in advances in Environmental Science and Technology 17, 33-52.

Parazols, M., Marinoni, A., Amato, P., Abida, O., Laj, P. and Mailhot, G., 2006: Speciation and role of iron in cloud droplets at the puy de Dôme station. *Journal of Atmospheric Chemistry* 54: 267-281.

Parazols, M., Marinoni, A., Amato, P., Abida, O., Laj, P., Delort, A-M., Zappoli, S. and Mailhot, G., 2007: Speciation and role of iron in cloud droplets at the puy de Dôme station (Erratum). *Journal of Atmospheric Chemistry* 57: 299-300.

Pehkonen, S.O., Erel, Y. And Hoffmann, M.R., 1992: Simultaneous spectrophotometric measurement of Fe(II) and Fe(III) in atmospheric water. *Environmental Science and Technology* 26(9), 1731-1736.

Pehkonen, S.O., Siefert, R., Erel, Y., Webb, S., 1993: Photoreduction of iron oxyhydroxides in the presence of important atmospheric organic compounds. *Environmental Science and Technology* 27, 2056-2062.

Pehkonen, S.O., Siefert, R.L. and Hoffmann, M.R., 1995: Photoreduction of iron oxyhydroxides and the photooxidation of halogenated acetic acids. *Environmental Science and Technology* 29, 1215-1222.

Podkrajšek, B., Grgić, I. and Turšič, J., 2002: Determination of sulphur oxides formed during the S(IV) oxidation in the presence of iron. *Chemosphere* 49, 271-277.

Poulain, L., 2005: Le devenir de quelques composés organiques volatils en phase aqueuse troposphérique : développement instrumentaux et étude de leur réactivité sous conditions simulées. Université de Provence Aix-Marseille I, Marseille, France.

Poulida, O., Schwikowsky, M., Baltensperger, U., Stachelin, J. and Gaeggeler, H.W., 1998: Scavenging of atmospheric constituents in mixed phase clouds at the High-Alpine site Jungfraujoch – Part II. Influence of riming on the scavenging of particulate and gaseous chemical species. *Atmospheric Environment* 32(23), 3985-4000.

Pourbaix, M., 1963: Atlas d'équilibre électrochimiques. Gauthier-Villars, Paris.

Rao, X. and Collett, J.L.Jr., 1995: Behavior of S(IV) and formaldehyde in a chemically heterogeneous cloud. *Environmental Science and Technology* 29, 1023-1031.

Rhäsa, D. and Zellner, R., 1987: Atmospheric oxidation of hydrocarbons. *Free Radical Research Communications* 3(1-5), 199-209.

Ricard, V., Jaffrezo, J.L., Kerminen, V.M., Hillamo, R.E., Sillanpaa, M., Ruellan, R., Liousse, C. and Cachier, H., 2002: Two years of continuous aerosol measurements in northern Finland. *Journal of Geophysical Research* 107(D11), doi: 10.1029/2001JD000952.

Richard, L.W., 1995: Airborne chemical measurements in nighttime stratus clouds in the Los Angeles basin. *Atmospheric Environment* 29(1), 27-46.

Riedel, K., Weller, R., Schrems, O. and König-Langlo, G., 2000: Variability of tropospheric hydroperoxides at a coastal surface site in Antarctica. *Atmospheric Environment* 34, 5225-5234.

Rohde, H., 1999: Human impact on the atmospheric sulphur balance. *Tellus* 51(A-B), 100-122.

Römpp, A., Winterhalter, R. and Moortgat, G.K., 2006: Oxodicarboxylic acids in atmospheric aerosol particles. *Atmospheric Environment* 40, 6846-6862.

Ruggaber, A., Dlugi, R., Bott, A., Forkel, R., Herrmann, H. And Jacobi, H-W., 1997: Modelling of radiation quantities and photolysis frequencies in the aqueous phase in the troposphere. *Atmospheric Environment* 31(19), 3137-3150.

Rush, J.D. and Bielski, B.H.J., 1985: Pulse radiolytic studies of the reactions of HO_2/O_2^- with Fe(II)/Fe(III) ions. The reactivity of HO_2/O_2^- with ferric ions and its implication on the occurrence of the Haber-Weiss reaction. *Journal of Physical Chemistry* 89, 5062-5066.

Sakugawa, H., Kaplan, I.R., Tsai, W. and Cohen, Y., 1990: Atmospheric hydrogen peroxide. *Environmental Science and Technology* 24(10), 1452-1462.

Salma, I., Maenhaut, W., 2006: Changes in elemental composition and mass of atmospheric aerosol pollution between 1996 and 2002 in a Central European city. *Environmental Pollution* 143, 479-488.

Sauer, F., Schuster, G., Schäfer, C. And Moortgat, G.K., 1996: Determination of H_2O_2 and organic peroxydes in cloud-and rain-water on the Kleiner Feldberg during FELDEX. *Geophysical Research Letters* 23(19), 2605-2608.

Sauer, F., Schäfer, C., Neeb, P., Horie, O. And Moortgat, G.K., 1999: Formation of hydrogen peroxide in the ozonolysis of isoprene and simple alkenes under humid conditions. *Atmospheric Environment* 33, 229-241.

Sauer, C.G., Pisano, J.T. and Fitz, D.R., 2003: Tunable diode laser absorption spectrometer measurements of ambient nitrogen dioxide, nitric acid, formaldehyde, and hydrogen peroxide in Parlia, California. *Atmospheric Environment* 37, 1583-1591.

Schuchmann, M.N. and Von Sonntag, C., 1988: The rapid Hydration of the acetyl radical. A pulse radiolysis study of acetaldehyde in aqueous solution. *Journal of American Chemical Society* 110, 5698-5701.

Schwanz, M., Warneck, P., Preiss, M. And Hoffmann, P., 1998: Chemical speciation of iron in fog water. *Contribution to Atmospheric Physics* 71(1), 131-143.

Schwartz, S.E., 1984: Gas- and aqueous-phase chemistry of HO_2 in liquid water clouds. *Journal of Geophysical Research* 89, 11589-11598.

Sedlak, D.L., Hoigné, J., David, M.M., Colville, R.N., Seyffer, E., Acker, K., Wiepercht, W., Lind, J.A., Fuzzi, S., 1997: The cloudwater chemistry of iron and copper at Great Dun Fell, UK. *Atmospheric Environment* 31, 2515-2526.

Seinfeld, J.H. and Pandis, S.N., 1998: Atmospheric chemistry and physics from air pollution to climate change. John Willey and Sons, New York.

Sellegri, K., Laj, P., Peron, F., Dupuy, R., Legrand, M., Preunkert, S., Putaud, J-P., Cachier, H. and Ghermandi, G., 2003(a): Mass balance of free tropospheric aerosol at the Puy de Dôme (France) in winter. *Journal of Geophysical Research* 108(D11), 4333-4349.

Sellegri, K., Laj, P., Dupuy, R., Legrand, M., Preunkert, S. and Putaud, J.P., 2003(b): Size-dependent scavenging efficiencies of multicomponent atmospheric aerosols in clouds. *Journal of Geophysical Research* 108(D11), doi: 10.1029/2002JD002749.

Sellegri, K., Laj, P., Marinoni, A., Dupuy, R., Legrand, M. and Preunkert, S., 2003(c): Contribution of gaseous and particulate species to droplet solute composition at the puy de Dôme, France. *Atmospheric Chemistry and Physics* 3, 1509-1522.

Sempéré, R. and Kawamura, K., 1996: Low molecular weight dicarboxylic acids and related compounds in the remote marine rain samples collected from western pacific. *Atmospheric Environment* 30(10/11), 1609-1619.

Sham, Y.Y. and Joens, J.A., 1995: Temperature dependent near UV molar absorptivities of several small aldehydes in aqueous solution. *Spectrochimica Acta* 51(A), 247-251.

Shapiro, J.B., Simpson, H.J., Griffin, K.L. and Schuster, W.S.F., 2007: Precipitation chloride at West Point, NY: Seasonal patterns and possible contribution from non-seawater sources. *Atmospheric Environment* 41, 2240-2254.

Siefert, R.L., Pekkonen, S.O., Erel, Y. and Hoffmann, M.R., 1994: Iron photochemistry of aqueous suspensions of ambient aerosol with added organic acids. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 58(15), 3271-3279.

Sinner, T., Hoffmann, P. and Ortner, H.M., 1994: Determination of OH-value, redox potential, transition metals concentration and Fe(II)- and Fe(III)- content in cloud water samples. *Contribution to Physics Atmosphere* 67, 353-357.

Sorooshian, A., Varutbangkul, V., Brechtel, F.J., Ervens, B., Feingold, G., Babrenini, R., Murphy, S.M., Holloway, J.S., Atlas, E.L., Buzorius, G., Jonsson, H., Flagan, R.C. and Seinfeld, J.H., 2006: Oxalic acid in clear and cloudy atmospheres: Analysis of data from International Consortium for Atmospheric Research on Transport and Transformation 2004. *Journal of Geophysical Research* 111, doi: 10.1029/2005JD006880.

Souza, S.R., Vasconcellos, R.C. and Carvalho, L.R.F., 1999: Low molecular weight carboxylic acids in an urban atmosphere: Winter measurements in São Paulo city, Brazil. *Atmospheric Environment* 33, 2563-2574.

Spokes, L.J., Jickells, T.D. and Lim, B., 1994: Solubilisation of aerosol trace metals by cloud processing: A laboratory study. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 58(15), 3281-3287.

Spokes, J., Jickells, T. and Jarvis, K., 2001: Atmospheric inputs of trace metals to the northeast Atlantic Ocean: Importance of southeasterly flow. *Marine Chemistry* 76, 319-330.

Stefan, M.I. and Bolton, J.R., 1999: Reinvestigation of the acetone degradation mechanism in dilute aqueous solution by the UV/H₂O₂ process. *Environmental Science and Technology* 33, 870-873.

Stemmler, K. and Von Gunten, U., 2000(a): OH radical-initiated oxidation of organic compounds in atmospheric water phases: part 1. Reactions of peroxy radicals derived from 2-butoxyethanol in water. *Atmospheric Environment* 34, 4241-4252.

Stemmler, K. and Von Gunten, U., 2000(b): OH radical-initiated oxidation of organic compounds in atmospheric water phases: part 2. Reactions of peroxy radicals with transition metals. *Atmospheric Environment* 34, 4253-4264.

Stookey, L.L., 1970: Ferrozine a new spectrophotometric reagent for iron. *Analytical Chemistry* 42, 779.

Sullivan, R.C., Guazzoti, S.A., Soderman, D.A., Tang, Y., Carmichael, G.R. and Prather, K.A., 2007: Mineral dust is a sink for chlorine in the marine boundary layer. *Atmospheric Environment* 41, 7166-7179.

Takami, A., Shiratori, N., Yonekura, H. and Hatakeyama, S., 2003: Measurement of hydroperoxydes and ozone in Oku-Nikko area. *Atmospheric Environment* 37, 3861-3872.

Tang, X., Madronich, S. Wallington, T. and Calamari, D., 1998: Changes in tropospheric composition and air quality. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 46, 83-95.

Tenberken, B. and Bächmann, K., 1997: Development of new methods for the analysis of single cloud-, fog- and raindrops by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A* 775, 372-377.

Thompsen, J.C. and Mottola, H.Z., 1984: Kinetics of the complexation of iron (II) with ferrozine. *Analytical Chemistry* 56, 755-757.

Trapp, D. and De Serves, C., 1995: Intercomparison of formaldehyde measurements in the tropical atmosphere. *Atmospheric Environment* 29(22), 3239-3243.

Turšič, J., Grgić, I. and Bizjak, M., 2001: Influence of NO₂ and dissolved iron on the S(IV) oxidation in synthetic aqueous solution. *Atmospheric Environment* 35, 97-104.

Valavanidis, A., Fiotakis, K., Vlahogianni, T., Bakeas, E.B., Triantafyllaki, S., Paraskevopoulou, V., and Dassenakis, M., 2006: Characterization of atmospheric particulates, particle-bound transition metals and polycyclic aromatic hydrocarbons of urban air in the centre of Athens (Greece). *Chemosphere* 65, 760-768.

Valverde-Canossa, J., Wieprecht, W., Acker, K. and Moortgat, G.K., 2005: H₂O₂ and organic peroxide measurements in an orographic cloud: The FEBUKO experiment. *Atmospheric Environment* 39, 4279-4290.

Van Pinxteren, D., Plewka, A., Hofmann, D., Müller, K., Kramberger, H., Svrčina, B., Bächmann, K., Joeschke, W., Mertes, S., Collett, J.L.Jr. and Herrmann, H., 2005: Schmücke hill cap cloud and valley stations aerosol characterisation during FEBUKO (II): Organic compounds. *Atmospheric Environment* 39, 4305-4320.

Vilgé-Ritter, A., Rose, J., Masion, A., Bottero, J-Y. and Lainé, J-M., 1999: Chemistry and structure of aggregates formed with Fe-salts and natural organic matter. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 147, 297-308.

Vione, D., Minero, C., Hamraoui, A. and Privat, M., 2007: Modelling photochemical reactions in atmospheric water droplets: An assessment of the importance of surface processes. *Atmospheric Environment* 41, 3303-3314.

Voisin, D., Legrand, M. and Chaumerliac, N., 2000: Scavenging of acidic gases (HCOOH, CH₃COOH, HNO₃, HCl, and SO₂) and ammonia in mixed liquid-solid water clouds at the puy de Dôme mountain (France). *Journal of Geophysical Research* 105(D5), 6817-6835.

Von Sonntag, C. and Schuchmann, H-P., 1991: The elucidation of peroxy radical reactions in aqueous solution with the help of radiation-chemical methods. *Angewandte Chemie International Edition in English* 30(10), 1229-1253.

Von Sonntag, C. and Schuchmann, H-P., 1997: Peroxy radicals in aqueous solution. John Wiley and Sons Ltd, Chichester, England, 173-234.

Vong, R.J., Baker, B.M., Brechtel, F.J., Collier, R.T., Harris, J.M., Kowalski, A.S., Mc Donald, N.C. and Mc Innes, L.M., 1997: Ionic and trace element composition of cloud water collected on the Olympic peninsula of Washington state. *Atmospheric Environment* 31(13), 1991-2001.

Walker, J.T., Whittall, D.R., Robarge, W. and Paerl, H.W., 2004: Ambient ammonia and ammonium aerosol across a region of variable ammonia density. *Atmospheric Environment* 38, 1235-1246.

Walker, J.T., Robarge, W.P., Shendrikar, A. and Kimball, H., 2006: Inorganic PM_{2.5} at a U.S. agricultural site. *Environmental Pollution* 139, 258-271.

Warneck, P., 2003: In-cloud chemistry opens pathway to the formation of oxalic acid in the marine atmosphere. *Atmospheric Environment* 37, 2423-2427.

Watanabe, K., Takebe, Y., Sode, N., Igarashi, Y., Takahashi, H. and Dkiya, Y., 2006: Fog and rain water chemistry at Mt. Fuji: A case study during the September 2002 campaign. *Atmospheric Research* 82, 652-662.

Weber, S., Hoffmann, P., Ensling, J., Dedik, A.N., Weinbruch, S., Mieke, G., Gütlich, P. and Ortner, H.M., 2000: Characterization of iron compounds from urban and rural aerosol sources. *Journal of Aerosol Science* 31(8), 987-997.

Weschler, C.J., Mandich, M.L. and Graedel, T.E., 1986: Speciation, photosensitivity, and reactions of transition metal ions in atmospheric droplets. *Journal of Geophysical Research* 91(4), 5189-5204.

Wieprecht, W., Acker, K., Mertes, S., Collett, J.Jr., Jaeschke, W., Brüggemann, E., Möller, D. and Herrmann, H., 2005: Cloud physics and cloud water sampler comparison during FEBUKO. *Atmospheric Environment* 39, 4267-4277.

Witt, M., Baker, A.R., and Jickells, T.D., 2006: Atmospheric trace metals over the Atlantic and South Indian Oceans: investigation of metal concentrations and lead isotope ratios in coastal and remote marine aerosols. *Atmospheric Environment* 40, 5435-5451.

Wu, F. and Deng, N., 2000: Photochemistry of hydrolytic iron (III) species and photoinduced degradation of organic compounds. A minireview. *Chemosphere* 41, 1137-1147.

Xu, H., Wentworth, P.J., Howell, N.W. and Joens, J.A., 1993: Temperature dependent near UV molar absorptivities of aliphatic aldehydes and ketones in aqueous solution. *Spectrochimica Acta* 49(A), 1171-1178.

Xu, G.D., Sherman, E., Andrews, E., Moore, K., Straub, D., Hoag, K. and Collett, J.Jr., 1999: The influence of chemical heterogeneity among cloud populations on processing of chemical species in winter clouds. *Atmospheric Research* 51, 119-140.

Yang, H., Yu, J.Z., Ho, S.S.H., Xu, J., Wu, W-S., Wan, C.H., Wang, C.H., Wang, X., Wang, X. and Wang, L., 2005: The chemical composition of inorganic and carbonaceous materials in PM_{2.5} in Nanjing, China. *Atmospheric Environment* 39, 3735-3749.

Yao, X., Lau, A.P.S., Fang, M., Chan, C.K. and Hu, M., 2003: Size distributions and formation of ionic species in atmospheric particulate pollutants in Beijing, China: 2-dicarboxylic acids. *Atmospheric Environment* 37, 3001-3007.

Yu, J.Z., Huang, X.F., Xu, J. and Hu, M., 2005: When aerosol sulphate goes up, so does oxalate: Implication for the formation mechanisms of oxalate. *Environmental Science and Technology* 39, 128-133.

Zhang, H., 2000: Light and Iron(III)-induced oxidation of chromium(III) in the presence of organic acids and manganese(II) in simulated atmospheric water. *Atmospheric Environment* 34, 1633-1640.

Zhou, X. and Lee, Y-N., 1992: Aqueous solubility and reaction kinetics of hydroxymethyl hydroperoxide. *Journal of Physical Chemistry* 96, 265-272.

Ziajka, J., Beer, F. and Warneck, P., 1994: Iron-catalysed oxidation of bisulphite aqueous solution: Evidence for a free radical chain mechanism. *Atmospheric Environment* 28(15), 2549-2551.

Zuo, Y. and Deng, Y., 1997: Iron(II)-catalyzed photochemical decomposition of oxalic acid and generation of H_2O_2 in atmospheric liquid phase. *Chemosphere* 35(9), 2051-2058.

Zuo, Y. and Deng, Y., 1999: Evidence for the production of hydrogen peroxide in rainwater by lightning during thunderstorms. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 63(19-20), 3451-3455.

Zuo, Y. and Zhan, J., 2005: Effect of oxalate on Fe-catalyzed photooxidation of dissolved sulfur dioxide in atmospheric water. *Atmospheric Environment* 39, 27-37.

Zuo, Y., 1995: Kinetics of photochemical/chemical cycling of iron coupled with organic substances in cloud and fog droplets. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 59, 3123-3130

9 Annexes

Speciation and role of iron in cloud droplets at the puy de Dôme station

Marius Parazols · Angela Marinoni · Pierre Amato ·
Othman Abida · Paolo Laj · Gilles Mailhot

Received: 28 April 2005 / Accepted: 8 March 2006
© Springer Science + Business Media B.V. 2006

Abstract Iron is the most abundant transition metal in the atmosphere and can play a significant role in cloudwater chemistry where its reactivity is closely related to the partitioning between Fe(II) and Fe(III). The objective of this work is to determine the total iron content and the iron speciation in a free tropospheric site, and to understand which factors influence these parameters.

We collected 147 samples of cloudwater during 34 cloud events over a period of four years at the puy de Dôme summit. Besides iron we measured other chemical compounds, solar radiation, physico-chemical and meteorological parameters potentially connected with iron reactivity. The total iron concentrations ranged from 0.1 to 9.1 μM with the major frequency occurring at low levels. The pH and presence of organic complexants seem to be the most significant factors connected with total dissolved iron; while the iron oxidation state seems to be an independent factor. Light intensity, presence of complexants or oxidants (H_2O_2) do not influence the Fe(II)/Fe(Total) ratio, that was quite constant at about 0.75. This could be due to the potential redox that forces the Fe(II)-Fe(III) couple to the reduced form or, more probably to the complexation by Natural Organic Matter, that can stabilize iron in its reduced form and prevent further oxidation.

Our field measurements did not show the diurnal cycle observed in surface water and predicted by models of atmospheric chemistry. This result prompts a more careful review of

M. Parazols · A. Marinoni (✉) · O. Abida · G. Mailhot
Laboratoire de Photochimie Moléculaire et Macromoléculaire,
UMR CNRS 6505
e-mail: angela.marinoni@unimib.it

P. Amato · P. Laj
Laboratoire de Météorologie Physique,
UMR CNRS 6016

M. Parazols · P. Amato
Laboratoire Synthèse et Etudes de Systèmes à Intérêt Biologique, UMR CNRS 6504 Université Blaise
Pascal Clermont-Ferrand, France

A. Marinoni
Dipartimento di Chimica Fisica e Inorganica, Università di Bologna, Italy

the role of iron and, by analogy, all the transition metals in atmospheric liquid phase, often over-estimated in the literature.

Keywords Reactivity · Cloudwater · Field experiment · Free troposphere · Iron speciation · Natural Organic Matter

1. Introduction

Dissolved trace metals are involved in different chemical processes in liquid atmospheric phase. Because of their capacity to form complexes with water, ammonia, sulphate and organic compounds (e.g. formate, acetate, oxalate or macromolecular compounds) (Feng and Nansheng, 2000; Zuo, 1995), transition metals play a significant role in redox cycles of sulphur (Jacob and Hoffmann, 1983; Hoffmann and Jacob, 1984; Weschler *et al.*, 1986; Graedel *et al.*, 1986; Martin and Hill, 1987; Conklin and Hoffman, 1988; Jacob *et al.*, 1989; Martin and Good, 1991) and organic compounds (Zuo and Hoigné, 1992; Pehkonen *et al.*, 1992; Pehkonen *et al.*, 1993; Erel *et al.*, 1993), in which they react as catalysts. The transition metals also significantly influence the aqueous free radical budget because they are supposed to react efficiently with many of the oxidising and reducing agents in cloudwaters such as $\text{HO}_2^\bullet/\text{O}_2^{\bullet-}$ or H_2O_2 (Faust and Hoigné, 1990; Zuo and Hoigné, 1992; Zuo and Hoigné, 1994; Sedlak *et al.*, 1997). Moreover, the photochemical dissociation of transition metal complexes may be a source of OH^\bullet radicals and hydrogen peroxide. The reactivity of the transition metals is closely related to their concentration in the aqueous phase; i.e. it has been shown that a twofold increase of dissolved iron concentration could increase the oxidation rate of S(IV) by a factor of 2 (Clarke and Radojevic, 1987).

Iron is the most abundant transition metal in solid and aqueous atmospheric samples: its concentration is at least one order of magnitude larger than other transition metals. The presence of iron in cloudwater depends exclusively on dissolution of aerosol particles through heterogeneous multiphase chemical reaction. It is usually introduced into the atmosphere as soil dust, fl ash from power plants, exhaust from combustion engines, and from industrial operations. The total concentration of dissolved iron in atmospheric aqueous phase is estimated to vary between 0.5 and 4.0%w/w of aerosol iron, for the anthropogenic aerosol (Hoffmann *et al.*, 1997; Germani and Zoller, 1994; Williams *et al.*, 1988), and much less in the crustal aerosol (Desboeufs *et al.*, 2005).

In order to obtain more information on the efficiency of the atmospheric iron redox cycle, it is important to know the partitioning between oxidation states of iron in atmospheric liquid water. Based solely on thermodynamics, the reduced form of iron (Fe(II)) is not expected to be present in natural waters saturated by air, because of the oxidant action of O_2 . In fact, in previous studies it has generally been assumed that iron was present predominantly as Fe(III) (Moore *et al.*, 1984; Zhuang *et al.*, 1990). However, more recent works suggest that Fe(II) could be an important constituent in atmospheric liquid water and aerosol particles. In rain samples collected in Germany both Fe(III) and Fe(II) were found in nearly equal amounts (Hoffmann *et al.*, 1991); fog water samples from Switzerland contained 20–90% dissolved Fe(II) of the total amount of iron (Behra and Sigg, 1990). Kotronarou and Sigg (1993) observed that Fe(II) is the predominant form of dissolved iron in fog water at low pH (<5); Deutsch *et al.* (2001) found from 40 to 72% of dissolved iron as Fe(II) .

Photochemistry seems to be the first factor regulating the iron oxidation state in surface water: many field studies show clear dependency between the Fe(II)/Fe(III) ratio and light intensity (Warneck, 1988; Erel *et al.*, 1993; Willey *et al.*, 2000; Sigg *et al.*, 2000; Deutsch

et al., 2001) Moreover iron speciation is also influenced by the presence of inorganic (OH^\bullet , sulphate, sulphite, ...) and organic (formate, acetate, formaldehyde, oxalate) ligands and by the mineralogy of the parental aerosol.

The chemistry of iron is closely connected to various processes that are very important for overall atmospheric chemistry, e.g., oxidation reactions, acidification of rain and aerosol sulphate formation. The goals of the present work are to determine the dissolved iron content in the liquid atmospheric phase in a free tropospheric site, its speciation between Fe(II) and Fe(III) and to understand the sensitivity of iron speciation to external parameters such as cloud chemical composition (especially organics), air mass origin, solar radiation and cloudwater Redox Potential.

2. Experimental

2.1. Study area

Experimental studies were carried out at the puy de Dôme (PDD) Station (48°N, 2°E; 1465 m a.s.l.), in the Central Massif Region (Central France). It is a strategic point from which to observe warm and mixed clouds that are present 50% of the time between November and March. Clouds are frequently formed at the top of the site either during advection of frontal systems or by orographic rise of moist air. During winter/spring time, the station lies in the free troposphere and air masses are usually exempt from the influence of local pollution.

An overall description of measurements performed at the station can be found at www.obs.univ-bpclermont.fr/: meteorological parameters, atmospheric gas concentrations (O_3 , NO_x , SO_2 , CO), black carbon (BC) and total number of particles (N_{CPC}) are monitored throughout the year.

2.2. Sampling

We characterized iron content and iron speciation on 34 cloud events from February 2001 to January 2005. Although most cloud samples were collected during the winter seasons due to the high cloud frequency, a number of samples are available for every season, including summer. Similarly, equal proportions of day-time and night-time samples were collected. We therefore believe that this set of samples is representative of the conditions prevailing at the station. The cloud events sampled and measurements performed are shown in Table 1.

The cloud droplet sampling was carried out by a one stage cloud impactor (Kruisz, 1993) with a protection screen for the wind; with the air flow used ($86 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$) the lower limit of the aerodynamic diameter was about $7 \mu\text{m}$, which ensures 80% of collection efficiency. Two different types of impactors were used during this work, one made of Teflon for the iron analysis, and a second one made of stainless steel and aluminium for dissolved organic carbon (DOC) and physico-chemical measurements (ionic chromatography, pH, Redox Potential and Conductivity). The sampling time ranged from 40 to 120 minutes, depending on the liquid water content of the cloud. Measurement of conductivity, redox potential, pH and Iron analyses were carried out in situ directly after sample collection, while a fraction of samples for Dissolved Organic Carbon (DOC) and Ion Chromatography analyses was kept frozen until analysis, performed less than 48 hours after collection.

At every stage, sampling and analyses were carried out with the greatest precaution to minimise all possible external contamination. To check data quality, we analysed at least two field blanks for each cloud event.

Table 1 Cloud events sampled at PDD from February 2001 until January 2005 (Fe: iron measurements (total content and oxidation state); IC: ionic chromatography; DOC: dissolved organic carbon; C: conductivity; E_h : redox potential)

Event	Start	End	Samples number	Air mass origin	Measured parameters
1	08/02/01	09/02/01	6	W/N (marine)	Fe, IC
2	12/02/01	13/02/01	9	E (continental)	Fe, IC
3	17/02/01	18/02/01	11	E (continental)	Fe, IC, pH
4	22/02/01	24/02/01	18	W/N (marine)	Fe, IC, pH
5	28/02/01	01/03/01	12	W/N (marine)	Fe, IC, pH
6	02/03/01	03/03/01	8	W/SW (marine)	Fe, IC, pH
7	08/03/01	08/03/01	2	W (marine)	Fe, IC, pH
8	05/04/01	06/04/01	1	E (continental)	Fe, IC, DOC
9	14/02/02	15/02/02	1	W/N (marine/continental)	Fe, IC, pH, DOC
10	22/02/02	22/02/02	1	W (marine)	Fe, IC, pH
11	27/02/02	27/02/02	1	W (marine)	Fe, IC, pH, DOC
12	28/02/02	28/02/02	1	N/W (marine/continental)	Fe, IC, pH, DOC
13	07/03/02	07/03/02	1	N (continental)	Fe, IC, pH, DOC
14	13/04/02	14/04/02	3	N (continental)	Fe, IC, pH, DOC
15	26/04/02	26/04/02	1	W (marine)	Fe, IC, pH, DOC
16	03/05/02	05/05/02	1	W (marine)	Fe, IC, pH, DOC
17	11/05/02	12/05/02	1	W/N (marine)	Fe, pH, DOC
18	30/04/03	30/04/03	1	W (marine)	Fe, pH
19	06/05/03	06/05/03	1	S (Saharan)	Fe, pH
20	10/05/03	10/05/03	1	S/W (continental)	Fe, pH
21	11/12/03	12/12/03	10	W (marine)	Fe, pH, DOC
22	14/01/04	15/01/04	9	W (marine)	Fe, pH, DOC
23	20/01/04	21/01/04	10	N/W (marine)	Fe, pH, DOC, C, E_h
24	16/02/04	16/02/04	2	N/E (continental)	Fe, pH, DOC, C, E_h
25	17/02/04	18/02/04	4	N/E (continental)	Fe, pH, DOC, C, E_h
26	08/03/04	08/03/04	5	N/E (continental)	Fe, pH, DOC, C, E_h
27	06/04/04	06/04/04	5	W (marine)	Fe, pH, DOC, C, E_h
28	22/04/04	23/04/04	3	N/W (marine)	Fe, pH, DOC, C, E_h
29	24/06/04	25/06/04	2	W (marine)	Fe, pH, DOC, C, E_h
30	08/07/04	09/07/04	1	N/W (marine)	Fe, pH, DOC, C, E_h
31	23/09/04	24/09/04	4	W (marine)	Fe, pH, DOC, C, E_h
32	17/11/04	17/11/04	3	W (marine)	Fe, pH, DOC, C, E_h
33	16/12/04	17/12/04	4	W (marine)	Fe, pH, DOC, C, E_h
34	19/01/05	19/01/05	4	NW (marine)	Fe, pH, DOC, C, E_h

2.3. Chemical analyses

2.3.1. Iron

To determine iron concentration, a colorimetric complexant (ferrozine) was used, coupled with spectrophotometric detection of complex absorbance ($\lambda_{\max} = 562$ nm). Ferrozine (3-(2-pyridyl)-5,6-bis(4-phenylsulfonic acid)-1,2,4-triazine) reacts with divalent iron to form a stable magenta complex species which is very soluble in water and can be used for direct determination of iron in water (Stookey, 1970). Fe(II) concentrations were directly determined. After reduction with hydroxylamine chlorhydrate, the total iron content was detected. Fe(III) was calculated by the subtraction of Fe(II) from Fe(Total). The detection limit with a quartz

cell with a path length of 10 cm is $0.05 \mu\text{M}$ for Fe(II) and $0.1 \mu\text{M}$ for Fe(Total), calculated as three times the standard deviation of field blanks.

Filtration of samples was not used, in order to avoid further contaminations. This analytical technique detects iron dissolved in the liquid phase, both iron free cations and iron complexed by ligands due to the high concentration of ferrozine added for the analysis and the high complexation constant between ferrozine and Fe(II) ($3 \times 10^{11} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, Thompson and Motola, 1984). Moreover, it was not possible to measure particulate iron, because ferrozine is not able to solubilize solid phase iron, and the time in which acidic reagents and particulate iron were in contact was too short to result in further solubilization of iron. This was confirmed by experiments on filtered (filter porosity at $0.22 \mu\text{m}$) and un-filtered samples.

2.3.2. Dissolved organic carbon (DOC)

DOC was measured with a TOC (Total Organic Carbon) analyser, Shimadzu model TOC-5050A. The analyses were carried out on filtered liquid atmospheric phase in order to measure only dissolved organic carbon. The Shimadzu TOC-5050A is capable of performing Total Carbon (TC) analyses by combustion and Inorganic Carbon (IC) analyses by oxidation. TOC measurements were calculated by the difference between TC and IC. The instrument works with a TC combustion tube, which is filled with a TC catalyst and heated to 680°C . When the cloudwater sample is introduced into the TC combustion tube, the carbon in the sample is combusted/oxidized to form CO_2 . The carrier gas (purified air) with the combustion product (CO_2) passes through a cell equipped with a Non-Dispersive Infrared Detector (NDIR), where CO_2 is detected. For the IC measurements, the sample is introduced into the IC reaction vessel (containing H_3PO_4 25%), through which the carrier gas flows in the form of tiny bubbles. Only the IC component in the sample is decomposed to form CO_2 , which is detected upon reaching the NDIR. Carbon in the form of carbonates and hydrogen carbonates are measured as IC. Calibration curves within the range $0\text{--}15 \text{ mg L}^{-1}$ were obtained by using potassium hydrogen phthalate for organic carbon and sodium hydrogen carbonate and sodium carbonate for inorganic carbon. Detection limit for DOC was 0.1 mg L^{-1} , calculated as three times the standard deviation of field blanks.

2.3.3. Ion chromatography

Ion chromatographic analyses were performed in a clean room (class 10 000). Cloudwater was injected directly without filtration to avoid further contamination. Working conditions were similar to those detailed by Jaffrezou *et al.* (1998), employing a DIONEX 100 Chromatograph equipped with a CS12 column for the cations, and a DIONEX 500 with AS11 column for the anions. CH_3COO^- , HCOO^- , Cl^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$, Na^+ , NH_4^+ , K^+ , Mg^{2+} and Ca^{2+} were the ions analysed for the samples from events 1 to 6, for the samples from events 7 to 16 additional mono and di-carboxylic acids were measured: lactic, glycolic, propionic, glyoxylic, glutaric, succinic, maleic, malonic and tartaric acids. Detection limits were calculated from a mean blank plus one standard deviation. The accuracy of ion chromatographic analyses is typically 10% for samples 10 times the detection limit, and approximately 50% for samples twice the detection limit.

2.4. Irradiation experiments

Some samples were irradiated in a laboratory irradiation chamber in order to free photochemical in-situ evidence from the gas phase photochemistry.

The irradiation device was a stainless steel cylinder built on an elliptical basis. It contained three TLAD Philips fluorescen tubes of 15 W, emitting within the wavelength range 300–450 nm with a maximum emission at 365 nm. The reactor was 1L PMP bottle located at one focal point of the elliptical reflectin device maintaining a constant irradiation of the whole sample. Samples were continuously stirred with a magnetic stirrer and a Teflo bar.

During irradiation experiments we monitored total iron and iron speciation along a timeline varying from 2 to 5 hours. Laboratory irradiations were performed under laminar fl w (class 100). A cooling system inside the reactor with cold water fl w stabilised the temperature at around $13^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, in order to limit thermal reactions.

Samples were stored (at the maximum 3 days) in the dark at $+4^{\circ}\text{C}$ between sampling and irradiation experiments.

3. Results and discussion

3.1. General results

Previous studies at the same site (Sellegrì *et al.*, 2003; Marinoni *et al.*, 2004) have shown that the puy de Dôme summit is under the influenc of two major air mass flu es, marine (west and north-west) and continental (north, east), each of them corresponding to a typical chemical signature of aerosol population and cloudwater chemical composition. A further class of anthropogenic events (correspondent to continental flux can be identifie using the chemical signature of the air mass. Occasionally special conditions are observed, like Saharan dust events with a southern flu (event 19) or polluted conditions not explained by air mass back trajectory, but probably due to local conditions like in the case of event 14.

A statistical overview of pH, redox potential (E_h), conductivity and concentrations of DOC measured in cloudwater and classifie according to air mass specification is presented in Table 2. In this Table, averages are weighted by cloud events and not by the total number of samples. Cloudwater pH ranged from 3.1 to 7.6, conductivity values from 4 to $348 \mu\text{S cm}^{-1}$; redox potential from 76 to 470 mV and DOC from 1.3 to 18.4 mg L^{-1} . Our observations at the PDD station were within the ranges measured with other atmospheric backgrounds and

Table 2 Average and standard deviation of fundamental parameters measured in 34 cloud events (average of 147 samples) for different air mass origin

Air Mass	Marine	Continental	Anthropogenic	Saharian
<i>Cloud Events</i>	1 4 5 6 7 10 11 12 15 16 17 19 20 21 22 26 27 28 29 30 31 32 33 34	2 3 8 9 13 25	14 23 24	19
pH	5.9 ± 0.6	5.0 ± 0.7	3.7 ± 0.4	7.3
Conductivity ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	29 ± 18	110 ± 69	199 ± 92	n.a
Redox potential (mV)	245 ± 57	338 ± 28	418 ± 46	n.a
DOC (mg L^{-1})	3.3 ± 1.4	8.1 ± 1.8	11.2 ± 5.6	n.a
TIC (mg L^{-1})	13.65 ± 10.31	19.01 ± 86.62	81.63 ± 84.36	n.a.
Iron (μM)	0.9 ± 0.7	1.6 ± 0.4	5.3 ± 3.2	5.5
Iron(II)/ Iron	$77\% \pm 19\%$	$74\% \pm 16\%$	$80\% \pm 12\%$	7%

anthropogenic cloudwater samples, i.e. Sinner *et al.*, 1994 measured a range of pH from 3.0 to 6.5 and E_h from 200 mV to 500 mV.

It is clear from Table 2 that most factors varied with the air mass type, especially pH and conductivity.

Considering averaged events, marine air masses were characterised by the highest pH values (ranging from 4.8 to 7.0 pH unity) and by the lowest values for conductivity (from 8 to $59 \mu\text{S cm}^{-1}$) and redox potential (from 134 to 320 mV, measured by a calomel electrode). In agreement with the conductivity range, both organic and inorganic contents were low: DOC varies from 1.3 to 8.9 mg L^{-1} and TIC (Total Ionic Content) from 3.3 to 36.3 mg L^{-1} .

On the contrary anthropogenic air masses had typically low pH values (within a range of 3.1 to 4.6) and high conductivity (ranging from 105 to $348 \mu\text{S cm}^{-1}$) and redox potential (ranging from 357 to 470 mV). In fact low pH values can be due to both higher concentrations of anthropogenic gas (such as SO_2 and NO_x) and to the high load and more acidic aerosol in the anthropogenic air masses. The gas and aerosols solubilized in cloud droplets can be an important source of ionic species (SO_4^{2-} , NO_3^- , H_3O^+) that increase cloudwater conductivity. The considerable aerosol load leads to a significant number of smaller droplets than marine events and consequently larger concentrations of solubilized species, both from gas and aerosol scavenging (Marinoni *et al.*, 2004). Moreover, low pH values could be a factor enhancing the solubility of some species from aerosol particles, especially for metals, like iron.

The cloudwater from continental air masses has intermediate characteristics: pH varies from 4.1 to 5.5, conductivity from 38 to $175 \mu\text{S cm}^{-1}$ and redox potential from 318 to 370 mV.

3.2. Total dissolved iron

The statistics per event that describe the total dissolved iron concentration and its speciation monitored throughout four years are shown in Table 3.

The total dissolved iron concentrations in cloudwater at the puy de Dôme ranged from 0.1 to $9.1 \mu\text{M}$, with the major frequency occurring at low levels, as is also suggested by the comparison between the average ($1.8 \mu\text{M}$) and the median value ($1.1 \mu\text{M}$). The most frequent concentrations representing the tropospheric background ranged from 0.2 to $1.6 \mu\text{M}$ corresponding to 11 to $90 \mu\text{g L}^{-1}$. With a liquid water content (LWC) of 0.3 g m^{-3} (average value at the puy de Dôme for marine events) the concentrations of iron corresponded approxi-

Table 3 Statistics of dissolved iron distribution (total iron and its speciation) in 34 cloud events sampled throughout four years of sampling campaigns

Iron concentration (μM)	[Fe(II)]	[Fe(Total)]	[Fe(III)]	[Fe(II)]/[Fe(Total)]
MIN	0.1	0.1	0.0	7.3%
10° centile	0.2	0.3	0.0	54.9%
25° centile	0.3	0.6	0.1	63.2%
Average	1.2	1.8	0.6	74.5%
Median	0.7	1.1	0.3	73.6%
75° centile	1.1	1.8	0.6	88.9%
90° centile	3.0	3.9	2.0	98.3%
MAX	6.8	9.1	5.1	109.4%
Standard deviation	1.5	2.1	1.0	20.6%

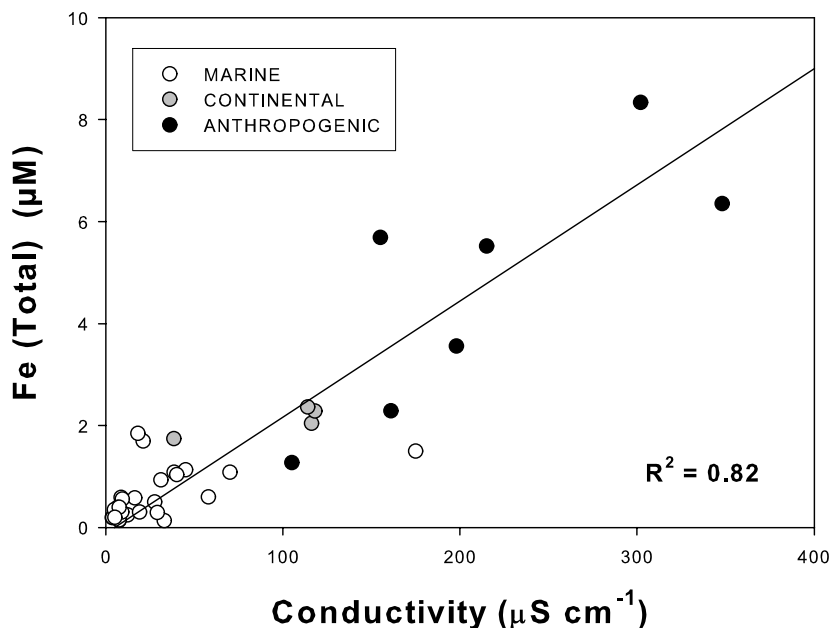


Fig. 1 Correlation between total dissolved iron concentration and conductivity in 45 samples collected during winter 2003/2004

mately to 3 to 30 ng m^{-3} of air during the marine events. However, in different meteorological conditions (continental flux a subsequent continental or anthropogenic component can be superposed and iron concentration could reach several hundreds of ng m^{-3}).

The range of concentrations measured at the puy de Dôme was generally quite low in comparison with measurements at other free tropospheric and marine sites: Sedlack *et al.* (1997) found values ranging from 2 to 27 μM at Great Dun Fell (England, continental free troposphere site), and from 2 to 10 μM at Palos Verdes Peninsula (marine site, Erel *et al.*, 1993). The PDD iron concentrations are in the same range as the Cleopatra field experiment carried out in South Germany (Sinner *et al.*, 1994) and samples from Whiteface Mountain (Arakaki and Faust, 1998).

The concentration of dissolved iron is linked to the air mass origin as suggested by Table 2 and by the good correlation ($R^2 = 0.82$) between conductivity and Fe(Total) concentration (Figure 1). It should be noted that iron always represented less than 0.1% of total conductivity. During polluted events, concentrations of dissolved iron could reach nearly 10 μM . In any case these concentrations were far lower than those measured at different urban sites, like Dubendorf-Zurig (2–70 μM , Sigg *et al.*, 1987), San Joaquin Valley in California (2–115 μM), Po Valley in Italy (1–30 μM , Fuzzi *et al.*, 1988). The relatively low concentration (5.5 μM) of dissolved iron during Saharan dust events as compared to dissolved iron during the special polluted event and the iron content of Saharan aerosol at the same site (Sellegri *et al.*, 2003) reflect the fact that a small fraction of Fe in desert dust can dissolve in water (Desboeufs *et al.*, 2005).

Both pH and organic complexants influence the dissolution of iron in the liquid atmospheric phase by increasing its solubility. This was confirmed in our samples, as shown in Figure 2. The highest concentrations of total dissolved iron (>4 μM) occur at low pH (<4),

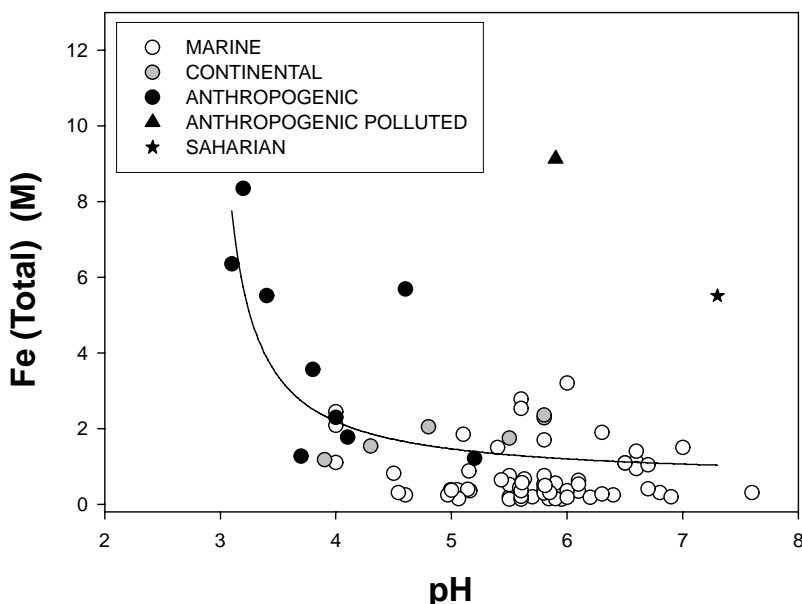


Fig. 2 Influence of pH on the solubility of total iron in 86 samples of cloud water

while in more neutral conditions the dissolved iron concentrations are much lower and do not exceed $3 \mu\text{M}$). This confirms aerosol leaching studies (Desboeufs *et al.*, 2005) and field data on cloudwater (Sedlack *et al.*, 1997) showing that the solubility of iron decreased with increasing pH. However, because we did not measure the soluble fraction of Fe, we cannot conclude on whether the relationship with pH originates from increased dissolution or from higher loading of soluble Fe in anthropogenic air masses.

The concentration of dissolved Fe during the Saharan dust event sampled on 6 May 2003 showed a higher level of total iron dissolved with regard to pH value, as compared to other samples. We can suggest that the very high aerosol load from Saharan dust (Sellegrì *et al.*, 2003) and the crustal origin (rich in iron content) of Saharan dust could strongly impact the dissolved iron concentration.

In the case of the anthropogenic very polluted event (14), the high concentration of dissolved Fe was linked to elevated ionic content (180 mg L^{-1}) and dissolved organic compounds ($\text{DOC} = 15.4 \text{ mg L}^{-1}$). We can hypothesise that, in the case of this polluted event, the role of complexants was quantitatively more important to initiate iron dissolution than the pH value. However, although conductivity was well-connected with total dissolved iron concentration (Figure 1), no clear correlation existed between concentrations of Fe and of any of the major ionic species measured by ion chromatography (listed in 2.3.3). In particular, no relationship was found between dissolved Fe and concentrations of organic acids (acetic, formic, oxalic, lactic, glycolic, propionic, glyoxylic, glutaric, succinic, maleic, malonic and tartaric acids) or inorganic anions (Cl^- , NO_3^- , SO_4^{2-}) that can complex iron.

Instead, the concentration of dissolved iron appeared to be linked to the Dissolved Organic Carbon content of clouds as shown in Figure 3, in particular for continental and anthropogenic samples. Both the lack of correlation with major ions and the relationship with DOC suggest that the concentration of dissolved Fe in cloudwater was linked first to the total aerosol loading and second to the presence of Fe-complexing organic substances that can prime subsequent

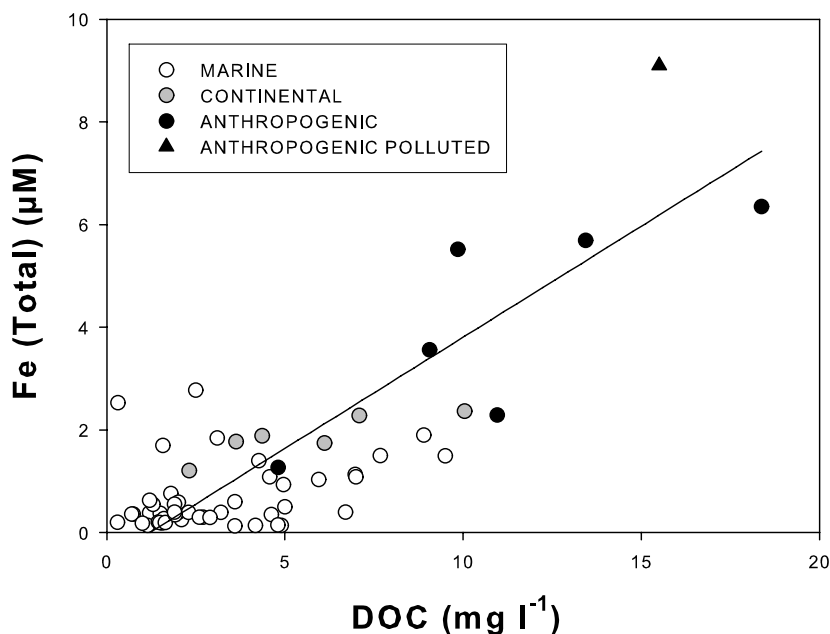


Fig. 3 Correlation between dissolved organic carbon and total dissolved iron measured simultaneously in 74 samples of cloudwater

iron dissolution from particles and that can also provide a source of dissolved iron. In fact, the presence of dissolved organic matter may affect the iron chemistry by sequestration or complex formation and hence regulate, in part, solubility and redox potential (Mill, 1980). On the contrary, in the marine events (represented by open circles in Figure 3), characterised by low concentrations for all organic and inorganic species, the iron concentration was less correlated with DOC and seemed predominantly linked to primary dust particles. In the anthropogenic polluted event (14), where the very high inorganic anions content largely exceeded the organic species, the action of inorganic complexants could prevail over that of organic ones.

3.3. Iron speciation

The speciation between Fe(II) and Fe(III) was measured in cloud samples in order to provide constraints on iron reactivity. A high percentage of Fe(II) relative to Fe(III) was detected in the majority of samples. The Fe(II)/Fe(Total) ratio ranged from 0.07 to 1.09 (uncertainty with the measurements gave some values larger than 1), with an average of 0.75 ± 0.24 (calculated on the averages of 34 cloud events). The very similar values of median and average showed a quite symmetrical distribution, with 25° and 75° percentiles close to the median value (Table 3). The low level of dispersion of Fe(II)/Fe(Total) in samples is also clear from Figure 4. Cloud water showed a very stable ratio between Fe(II) and Fe(Total) especially during anthropogenic and very polluted events (0.77 ± 0.14 ; $R^2 = 0.95$), while a somewhat higher fraction of Fe(III) was found for some background events: under these background conditions, a few samples even showed a proportion of Fe(III) higher than 30%. The sample collected during the Saharan dust episode showed a very high fraction of Fe(III)

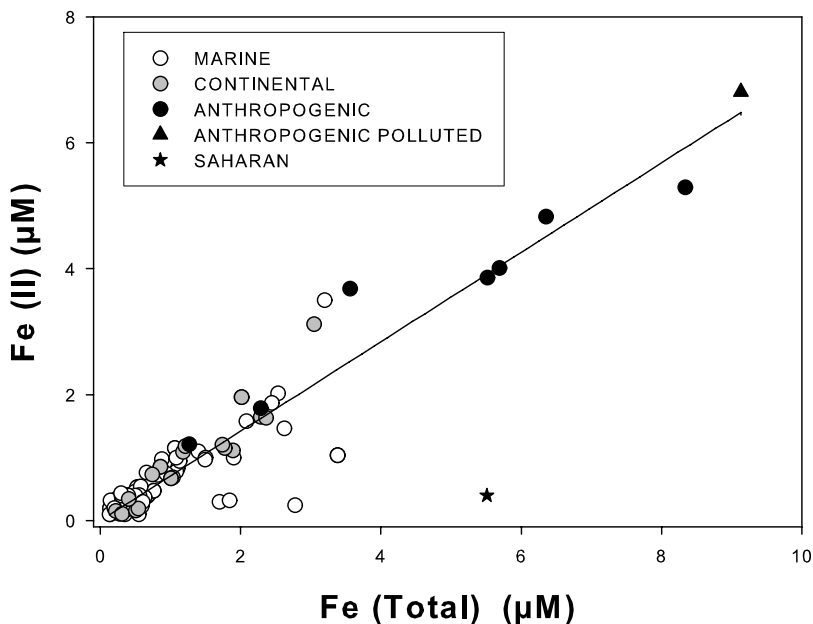


Fig. 4 Fe(II) concentration as a function of Fe(Total) concentration in 146 samples of cloudwater

(93%) probably due to the dust mineralogy as Fe(III) is the most frequent form of iron in the crystalline phase of the most frequent minerals in the earth's crust (Wedepohl, 1995).

The stability of the Fe(II)/Fe(Total) ratio is confirmed by the lack of correlation between the oxidation state of iron and solar radiation (as measured by pyranometers at the station) or oxidation parameters (redox potential or H_2O_2 were measured in about 50 samples). In fact, no significant difference in Fe(II)/Fe(Total) was found between day-time and night-time samples. In contrast with some experimental studies (Erel *et al.*, 1993; Willey *et al.*, 2000; Sigg *et al.*, 2000; Deutsch *et al.*, 2001), daylight did not appear to favour Fe(II) production in cloudwater at the puy de Dôme summit.

In order to understand the influence of light on the oxidation state of iron in puy de Dôme cloudwater, experiments were conducted to irradiate natural samples of puy de Dôme cloudwater in the laboratory. During 10 cloud events, sufficient volume (500 mL) of cloudwater was collected to perform additional irradiation experiments. Samples were irradiated in a reactor at wavelengths between 300 nm and 450 nm (well-representative UV-visible wavelengths of the tropospheric solar spectrum) in order to monitor the behaviour of iron. In Table 4 we reported the averaged value of normalised variations of Fe(II)/Fe(Total) ratio during irradiation. The averaged results of these 10 experiments showed no clear evolution of iron speciation with irradiation. The ratio between the two oxidation states varied very little, and did not show any tendency to evolve during irradiation. The same kind of experiments carried out with Milli-Q water spiked with Fe(II), Fe(III) and a source of organic carbon showed a very quick increase of Fe(II) concentration under irradiation. The photostationary equilibrium between Fe(II) and Fe(Total) was close to 1 after 15 minutes of irradiation (Mailhot *et al.*, 2002). The fraction of Fe(II) in cloudwater appeared to be much more stable than theoretically expected.

Table 4 Averaged result of Fe(II)/Fe(Total) variation from 10 irradiation experiments showing no evolution in iron speciation varying light intensity

Irradiation time (h)	[Fe(II)]/[Fe(Total)]	Standard deviation
t_0	0.68	0.07
1	0.78	0.25
2	0.71	0.15
3	0.65	0.24
4	0.71	0.12

This lack of dependency of iron speciation on light intensity could be due to factors limiting the presence of the oxidized form of iron and stabilising it.

In the range of pH, E_h and Fe concentrations measured, the expected fraction of soluble iron was much lower than that measured in our cloudwater samples (a factor about $10\text{--}10^5$), especially in the case of marine events. This is clearly shown in the Pourbaix iron speciation diagram in pure water (Figure 5) where only a few acidic samples dissolved iron at the expected concentration.

This enhanced solubility was likely due to the presence in the water of other forms of iron than iron free cation. In particular, iron in cloudwater could be rapidly adsorbed onto Natural Organic Matter (NOM) (Rose *et al.*, 1997). The major fraction of freshly solubilized iron from aerosol particles should be in its reduced form (Fe(II)), according to the Pourbaix diagram (i.e. E_h lower than 770 mV) and due to daytime photo-reduction.

Iron in both Fe(II) and Fe(III) oxidation state may be stabilised in aqueous aerobic conditions by organic acids. Fe(II) organic complexes analogous to those of humic acids are resistant to oxidation for considerable periods of time (Mill, 1980). Moreover the NOM can

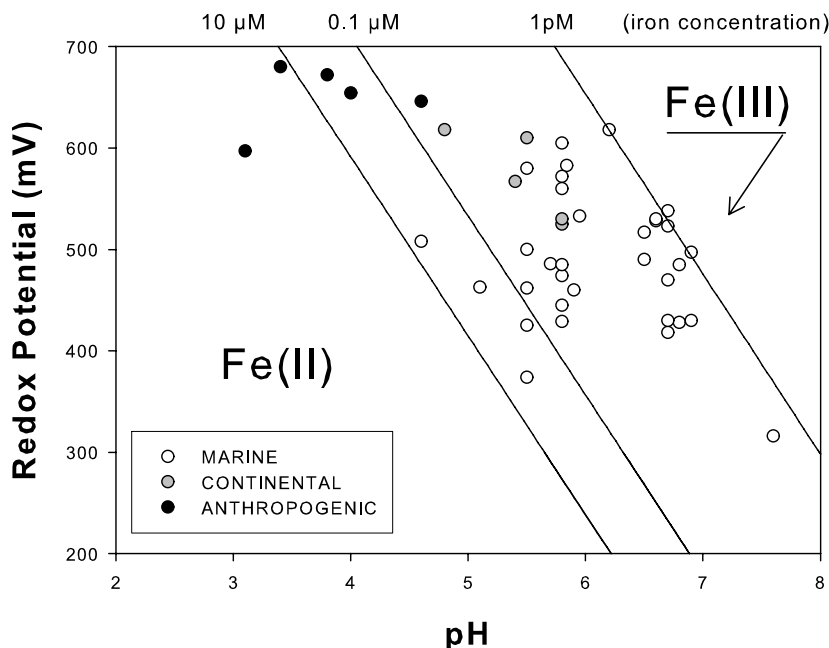


Fig. 5 Pourbaix diagram for an iron solution in absence of other chemicals. The Redox values are corrected with reference to the hydrogen electrode (E_h hydrogen = E_h calomel + 240 mV)

lead to the reduction from Fe(III) to Fe(II). Both oxidation states are able to form stable complexes with NOM (especially with humic substances), especially Fe(III), but also Fe(II) by adsorption of the $\text{Fe}(\text{OH})_2$ species on colloidal organic matter. This fraction of colloidal iron was included in our iron measurements because of the very small size of this kind of colloid (i.e. diameter lower than $0.22\ \mu\text{m}$ which is the size of the pores of filter used to determine if we also measured some particulate iron). This small Fe(II)-NOM colloid may have stabilized iron in this oxidation state and prevented further re-oxidation. This hypothesis is consistent with previous studies at the same site found that hydrophobic macromolecular compounds could constitute around 40% of the total DOC in cloudwater (Zappoli S., personal communication).

The difference between the photo-oxido-reduction cycles of iron observed in natural surface waters and our observations in cloudwater may be explained by the presence of these Fe-NOM colloids and by the higher redox potential in atmospheric aqueous aerosols, relatively to the surface waters. In fact at the same pH values, lower E_h allowed higher concentration of free soluble iron which might be more reactive and photo-reactive than iron adsorbed on humic substances (Faust, 1994).

The distribution of iron between its two main oxidation states (+II and +III) is considered in scientific literature to be a good indicator of oxido-reduction potential and the reactivity in cloud droplets (especially in radical production and oxidation reactions). The sensitive parameters that impact iron speciation are identified in i) solar radiation, ii) presence of oxidants (especially H_2O_2) and iii) oxalate concentrations.

Field measurements shown in this study did not show the diurnal cycle observed in surface water (Willey *et al.*, 2001) and predicted (expected) by atmospheric chemistry model (Deguillaume *et al.*, 2004). On the contrary iron seemed to show a very independent behaviour, not influenced by solar radiation, H_2O_2 or oxalate concentration. We suggest that complexation of iron by NOM stabilised the iron in reduced form and prevented further oxidation: this form of iron is less reactive than iron free cation or Fe(III)-hydroxo-complexes. In this case the role of iron and, by analogy, of all the transition metals in atmospheric liquid phase has to be carefully considered.

4. Conclusions

Monitoring of dissolved iron with its speciation was carried out at the puy de Dôme summit over four years. The values of total iron ranged from 0.1 to $9.1\ \mu\text{M}$ with the major frequency occurring at low levels, which are representative of the tropospheric background conditions (about $11\text{--}90\ \mu\text{g l}^{-1}$). The total iron concentration was linked with the parameters that are representative of the air mass nature (conductivity, pH, redox potential). The pH and presence of organic complexants seemed to be the most significant factors impacting the total dissolved iron content.

The iron speciation seemed to be an independent factor: light intensity, presence of complexants (also oxalate) or oxidants (H_2O_2) did not influence the Fe(II)/Fe(Total) ratio, which was constant at about 0.75 ± 0.24 . Experiments of real sample irradiation confirmed that no evolution of iron speciation was driven by light intensity or wavelength. The ratio between the two oxidation states underwent very little variation, but did not show a tendency towards evolution; we observed the same percentage of Fe(II) typical for cloudwater freshly sampled. We propose that NOM colloids play a very significant role in stabilising iron in its reduced oxidation state and preventing its further re-oxidation.

This evidence contrasts with some experimental studies on water surface and with results predicted from atmospheric chemistry models, that describe a significant diurnal cycle with excess of Fe(II) during the day and oxidation to Fe(III) during the night. The Fe(II)-NOM complexes are a less reactive form than iron free cation or Fe(III)-hydroxo-complexes. Thus the role of iron and, by analogy, of all the transition metals in atmospheric liquid phase has to be carefully considered.

Acknowledgements This work was supported by CNRS-INSU under the National Program for Atmospheric Research (PNCA) and the ACI-ORE-BEAM project from the French Ministry for Research and Education. The authors acknowledge additional financial support from the scientific council of 'Région Auvergne' and from Observatoire de Physique du Globe de Clermont-Ferrand (OPGC). A. Marinoni acknowledges support from CNRS in her position of associate researcher.

The authors gratefully acknowledge the NOAA Air Resources Laboratory (ARL) for the provision of the HYSPLIT transport and dispersion model and/or READY website (<http://www.arl.noaa.gov/ready.html>) used in this publication.

References

- Arakaki, T., Faust, B.C.: Sources, sinks, and mechanism of hydroxyl radical (OH) photoproduction and consumption in authentic acidic continental cloudwaters from Whiteface Mountain, New York: The role of the Fe(r) ($r = \text{II, III}$) photochemical cycle. *J. Geophys. Res.* **103**, 3487–3504 (1998)
- Behra, P., Sigg, L.: Evidence for redox cycling of iron in atmospheric water droplets. *Nature* **344**, 419–421 (1990)
- Clarke, A.G., Radojevic, M.: Oxidation of SO₂ in rainwater and its role in acid rain chemistry. *Atmos. Environ.* **21**, 1115–1123 (1987)
- Conklin, M.H., Hoffman, M.R.: Metal ion-sulfur(IV) chemistry: 3- Thermodynamics and kinetics of transient iron(III)-sulfur(IV) complexes. *Environ. Sci. Technol.* **22**, 883–891 (1988)
- Deguillaume, L., Leriche, M., Monod, A., Chaumerliac, N.: The role of transition metal ions on HO_x radicals in clouds: a numerical evaluation of this impact on multiphase chemistry. *Atmos. Chem. Phys.* **4**, 95–110 (2004)
- Desboeufs, K.V., Sofikitis, A., Losno, R., Colin, J.L., Ausset, P.: Dissolution and solubility of trace metals from natural and anthropogenic aerosol particulate matter. *Chemosphere* **58**, 195–203 (2005)
- Deutsch, F., Hoffmann, P., Ortner, H.M.: Field experimental investigations on the Fe(II)- and Fe(III)-content in cloudwater samples. *J. Atmos. Chem.* **40**, 87–105 (2001)
- Erel, Y., Pehkonen, S.O., Hoffmann, M.R.: Redox chemistry of iron in fog and stratus clouds. *J. Geophys. Res.* **98**, 18423–18434 (1993)
- Faust, B.C., Hoigné, J.: Photolysis of Fe(III)-hydroxy complexes as sources of OH radicals in clouds, fog and rain. *Atmos. Environ.* **24**, 79–89 (1990)
- Faust, B.C.: A review of the photochemical redox reactions of iron(III) species in atmospheric, oceanic, and surface waters: influence and geochemical cycles and oxidant formation. In: Helz G.R., Zepp, R.G., Crosby D.G. (eds). *Aquatic and Surface Photochemistry*, Lewis Publishers, pp. 3–37 (1994)
- Feng, W., Nansheng: Photochemistry of hydrolytic iron (III) species and photoinduced degradation of organic compounds. A Minireview. *Chemosphere* **41**, 1137–1147 (2000)
- Fuzzi, S., Orsi, G., Nardini, G., Facchini, M.C., McLaren, S., McLaren, E., Mariotti, M.: Heterogeneous processes in the Po Valley radiation fog. *J. Geophys. Res.* **93**, 11141–11151 (1988)
- Germani, M.S., Zoller, W.H.: Solubilities of elements on in-stack suspended particles from a municipal incinerator. *Atmos. Environ.* **28**, 1393–1400 (1994)
- Graedel, T.E., Mandich, M.L., Weschler, C.J.: Kinetic model studies of atmospheric droplet chemistry 2. Homogeneous transition metal chemistry in raindrops. *J. Geophys. Res.* **91**, 5205–5221 (1986)
- Hoffmann, M.R., Jacob, D.J.: Kinetics and mechanisms of the catalytic oxidation of dissolved sulphur dioxide in aqueous solution: An application to nighttime fog water chemistry, In Calvert, J.G. (ed). SO₂, NO and NO₂ Oxidation Mechanisms: Atmospheric Considerations. Butterworth Publishers, Boston, MA, pp. 101–172 (1984)
- Hoffmann, H., Hoffmann, P., Lieser, K.H.: Transition metals in atmospheric aqueous samples, analytical determination and speciation. *Fresenius J. Anal. Chem.* **340**, 591–597 (1991)
- Hoffmann, P., Dedik, A.N., Deutsch, F., Sinner, T., Weber, S., Eichler, R., Sterkel, S., Sastri, C.S., Ortner, H.M.: Solubility of single chemical compounds from an atmospheric aerosol in pure water. *Atmos. Environ.* **31**, 2777–2785 (1997)

- Jacob, D.J., Hoffmann M.R.: A dynamic model for the production of H^+ , NO_3^- and SO_4^{2-} in urban fog. *J. Geophys. Res.* **88**, 6611–6621 (1983)
- Jacob, D.J., Gottlieb, E.W., Prather, M.J.: Chemistry of a polluted cloudy boundary layer. *J. Geophys. Res.* **94**, 12975–13002 (1989)
- Jaffrezo, J.-L., Calas, N., Bouchet, M.: Carboxylic acid measurements with ionic chromatography. *Atmos. Environ.* **32**, 2705–2708 (1998)
- Kotronarou, A., Sigg, L.: SO_2 oxidation in atmospheric water: Role of Fe(II) and effect of ligands. *Environ. Sci. Technol.* **27**, 2725–2735 (1993)
- Kruisz, C., Berner, A., Brantner, B.: A cloudwater sampler for high wind speeds. *Proceeding of EUROTRAC Symposium 1992*, Borell, P.M., 523–525 (1993)
- Mailhot, G., Sarakha, M., Lavedrine, B., Caceres, I., Malato, S.: Fe (III)-solar light induced degradation of diethyl phthalate in aqueous solution. *Chemosphere.* **49**, 525–532 (2002)
- Marinoni, A., Laj, P., Sellegri, K., Mailhot, G.: Cloud chemistry at the Puy de Dôme: variability and relationship with environmental factors. *Atmos. Chem. Phys.* **4**, 715–728 (2004)
- Martin, L.R., Hill, M.W.: The iron catalyzed oxidation of sulphur: Reconciliation of literature rates. *Atmos. Environ.* **21**, 1487–1490 (1987)
- Martin, L.R., Good, T.W.: Catalyzed oxidation of sulfur dioxide in solution: The iron-manganese synergism. *Atmos. Environ.* **25**, 2395–2399 (1991)
- Mill, A.J.B.: Colloidal and macromolecular form of iron in natural waters: a review. *Environ. Technol. Lett.* **1**, 97–108 (1980)
- Moore, R.M., Milley, J.E., Chatt, A.: The potential for biological mobilisation of trace elements from Aeolian dust in the ocean and its importance in the case of iron. *Oceanologica Acta.* **7**, 221–228 (1984)
- Pehkonen, S.O., Erel, Y., Hoffmann, M.R.: Simultaneous spectrophotometric measurements of Fe(II) and Fe(III) in atmospheric water. *Environ. Sci. Technol.* **26**, 1731–1736 (1992)
- Pehkonen, S.O., Siefert, R., Erel, Y., Webb, S.: Photoreduction of iron oxyhydroxides in the presence of important atmospheric organic compounds. *Environ. Sci. Technol.* **27**, 2056–2062 (1993)
- Rose, J., Vilge, A., Olivier-Lauquet, G., Masion, A., Frechou, C., Bottero J.Y.: Iron speciation in natural organic matter colloids. *Colloids and Surfaces.* **A136**, 11–19 (1997)
- Sedlak, D.L., Hoigné, J., David, M.M., Colville, R.N., Seyffer, E., Acker, K., Wiepercht, W., Lind, J.A., Fuzzi, S.: The cloudwater chemistry of iron and copper at Great Dun Fell, UK. *Atmos. Environ.* **31**, 2515–2526 (1997)
- Sellegri, K., Laj, P., Dupuy, R., Legrand, M., Preunkert, S., Putaud, J.P.: Mass balance of free tropospheric aerosol at the Puy de Dôme (France). *J. Geophys. Res.* **108**, 4333 (2003)
- Sigg, L., Stumm, W., Zobrist, J., Zuercher, F.: The chemistry of fog: factors regulating its composition. *Chimia.* **41**(5), 159–165 (1987)
- Sigg, L., Behra, P., Stumm, W.: *Chimie des milieux aquatiques (Chimie des eaux naturelles et des interfaces dans l'environnement)*. Dunod (2000)
- Sinner, T., Hoffmann, P., Ortner, H.M.: Determination of OH-value, Redox-potential, transition metals concentration and Fe(II)- and Fe(III)-Content in cloud water samples. *Contribution Physics. Atmos.* **67**, 353–357 (1994)
- Stookey, L.L.: Ferrozine a new spectrophotometric reagent for iron. *Analytical Chemistry.* **42**, 779–781 (1970)
- Thompson, J.C., Motola, H.Z.: Kinetics of the complexation of iron(II) with ferrozine. *Anal. Chem.* **56**, 755–757 (1984)
- Warneck, P.: *Chemistry of the Natural Atmosphere*, Academy San Diego, CA (1988)
- Wedepohl K.H.: The composition of continental crust. *Geochimica and Cosmochimica Acta.* **59**, 1217–1232 (1995)
- Weschler, C.J., Mandich, M.L., Graedel, T.E.: Speciation, photosensitivity and reaction of transition metal ions in atmospheric droplets. *J. Geophys. Res.* **91**, 5189–5204 (1986)
- Wiley, J.D., Kieber, R.J., Williams, K.H., Crozier, J.S., Skrabal, S.A., Avery G.B.: Temporal variability of iron speciation in coastal rainwater. *J. Atmos. Chem.* **37**, 185–205 (2000)
- Williams, P.T., Radojevic, M., Clarke, A.G.: Dissolution of trace metals from particles of industrial origin and its influence on the composition of rainwater. *Atmos. Environ.* **22**, 1433–1442 (1998)
- Zhuang, G.S., Duce, R.A., Kester, D.R.: The solubility of atmospheric iron in surface seawater of the open ocean. *J. Geophys. Res.* **95**, 16202–16216 (1990)
- Zuo, Y., Hoigné, J.: Formation of hydrogen peroxide and depletion of oxalic acid in atmospheric by photolysis of iron(III)-oxalato complexes. *Environ. Sci. Technol.* **26**, 1014–1022 (1992)
- Zuo, Y., Hoigné, J.: Photochemical decomposition of oxalic, glyoxalic and pyruvic acid catalysed by iron in atmospheric waters. *Atmos. Environ.* **28**, 1231–1239 (1994)
- Zuo, Y.: Kinetics of photochemical/chemical cycling of iron coupled with organic substances in cloud and fog droplets. *Geochimica et Cosmochimica Acta.* **59**, 3123–3130 (1995)

Speciation and role of iron in cloud droplets at the puy de Dôme station

Marius Parazols · Angela Marinoni · Pierre Amato ·
Otman Abida · Paolo Laj · Gilles Mailhot ·
Anne-Marie Delort · Zappoli Sergio

Published online: 27 June 2007

© Springer Science + Business Media B.V. 2007

This erratum is initiated in order to add Author's corrections which were not carried out previously.

This article appears in Vol.54; Issue 03. Page: 267–281., DOI 10.1007/s10874-006-9026-x.

Corrected article should read as follows:

PAGE 267

5th line 2 authors more: Anne-Marie Delort and Zappoli Sergio

*Correspondence to: Angela Marinoni, now at Institute of Atmospheric Science and Climate

e-mail: a.marinoni@isac.cnr.it

PAGE 270, Abstract, after the sentence "Light intensity, presence of complexants or oxidants (H_2O_2) do not influence the $\text{Fe(II)}/\text{Fe(Total)}$ ratio, that was quite constant at about 0.75." add this sentence: "The relatively high iron concentration (according to pH/redox potential equilibrium) and the lack of light dependence on $\text{Fe(III)}/\text{Fe(II)}$ couple is probably

The online version of the original article can be found at <http://dx.doi.org/10.1007/s10874-006-9026-x>.

M. Parazols · A. Marinoni (✉) · O. Abida · G. Mailhot
Laboratoire de Photochimie Moléculaire et Macromoléculaire,
UMR CNRS, 6505 Aubiere Cedex, France
e-mail: angela.marinoni@unimib.it

P. Amato · P. Laj
Laboratoire de Météorologie Physique, UMR CNRS, 6016 Aubiere Cedex, France

M. Parazols · P. Amato
Laboratoire Synthèse et Etudes de Systèmes à Intérêt Biologique,
UMR CNRS 6504 Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand, France

A. Marinoni
Dipartimento di Chimica Fisica e Inorganica, Università di Bologna, Bologna, Italy

A.-M. Delort · Z. Sergio
Institute of Atmospheric Science and Climate, Bologna, Italy

due to the speciation of iron (interaction with natural organic matter) that can stabilize iron in its reduce form and prevent further oxidation.”

PAGE 270, § 2.3.1 after “To determine iron concentration, a colorimetric complexant” add “(ferrozine, 2 mM during titration).”

PAGE 271, § 2.3.1 after “This was confirmed by experiments on filtered (filter porosity at 0.22 μm) and un-filtered samples” add “, which have not shown any impact on iron concentration or speciation.”

PAGE 271, after § 2.3.3 add

2.3.4 pH, Conductivity and redox potential

The references of the multiparameters used for conductivity, redox potential and pH measurements are Consort C830 multiparameter for conductivity and redox potential (calomel electrode) and Consort P400 for pH.

PAGE 271, § 2.4 First sentence have to transformed in “Some aqueous samples were exposed to artificial light in a hermetic photoreactor in order to observe the transformation due to photochemical influence on cloud water chemistry, free from the gas phase transfer.”

PAGE 271, § 2.4 3rd line after PMP add (Poly-Methyl-Pentene).

PAGE 273, § 3.1 14th line solubilized have to be replaced by “dissolved”, as well as at line 17th.

PAGE 274, § 3.2 last line after “This was confirmed in our samples, as shown in Figure 2” add “ and Figure 3”.

PAGE 279, § 3.3 10th line, after “This hypothesis is consistent with previous studies at the same site found that hydrophobic macromolecular compounds could constitute around 40% of the total DOC in cloudwater (Zappoli S., personal communication).” Add “It is likely probable that these or similar compounds catch metals and subtract them to free iron available for photochemical cycles in cloudwater.”

PAGE 279, § 3.3 16th line, after “In fact at the same pH values, lower E_h allowed higher concentration of free soluble iron, which might be more reactive and photoreactive than iron adsorbed on humic substances (Faust, 1994).” Add “According to the pH/redox potential equilibrium, the free iron available to undergo photochemical processes is more abundant in surface water with respect to atmospheric waters.

Unfortunately no information on DOC content and speciation are available for the atmospheric samples in which other authors found light influence on iron speciation, but we can assume a special composition of organic matter dissolved in cloudwater at Puy de Dôme that play a crucial role in iron complexation and stabilisation. Moreover, organic matter present in PDD cloudwater samples might absorb light, which is then not available anymore to trigger the photoreduction of chelated iron.”

Microorganisms isolated from the water phase of tropospheric clouds at the Puy de Dôme: major groups and growth abilities at low temperatures

Pierre Amato^{1,2}, Marius Parazols^{2,3}, Martine Sancelme¹, Paolo Laj², Gilles Mailhot³ & Anne-Marie Delort¹

¹Laboratoire de Synthèse et Etude de Systèmes à Intérêt Biologique, Université Blaise Pascal, Aubière, France; ²Laboratoire de Météorologie Physique, Université Blaise Pascal, Aubière, France; and ³Laboratoire de Photochimie Moléculaire et Macromoléculaire, Université Blaise Pascal, Aubière, France

Correspondence: Pierre Amato, Laboratoire de Synthèse et Etude de Systèmes à Intérêt Biologique, UMR 6504 CNRS-Université Blaise Pascal, 63177 Aubière cedex, France. Tel.: +00 33 473 40 77 14; fax: +00 33 473 40 77 17; e-mail: p.amato@opgc.univ-bpclermont.fr

Received 28 April 2006; revised 21 July 2006; accepted 21 July 2006.

First published online 8 September 2006.

DOI:10.1111/j.1574-6941.2006.00199.x

Editor: Max Häggblom

Keywords

Atmosphere; cloud water; microorganisms; fungi; cold environment.

Abstract

This work constitutes the first large report on aerobic cultivable microorganisms present in cloud water. Seven cloud-event samples were collected at the Puy de Dôme summit, and cultivation was performed leading to the isolation of 71 bacterial, 42 fungal and 15 yeast strains. Most of the fungi isolated were of *Cladosporium* or *Trametes* affiliation, and yeasts were of *Cryptococcus* affiliation. Bacteria, identified on the basis of their 16S rRNA gene sequence, were found to belong to *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Proteobacteria* (*Alpha*, *Beta* and *Gamma* subclasses) and *Bacteroidetes* phyla, and mainly to the genera *Pseudomonas*, *Sphingomonas*, *Staphylococcus*, *Streptomyces*, and *Arthrobacter*. These strains appear to be closely related to some bacteria described from cold environments, water (sea and freshwater), soil or vegetation. Comparison of the distribution of Gram-negative vs. Gram-positive bacteria shows that the number of Gram-negative bacteria is greater in summer than in winter. Finally, a very important result of this study concerns the ability of half of the tested strains to grow at low temperatures (5 °C): most of these are Gram-negative bacteria, and a few are even shown to be psychrophiles. On the whole, these results give a good picture of the microbial content of cloud water in terms of classification, and suggest that a large proportion of bacteria present in clouds have the capacity to be metabolically active there. This is of special interest with respect to the potential role of these microorganisms in atmospheric chemistry.

Introduction

Clouds can be defined as atmospheric air masses in which water is condensed around particles in solid (ice crystals) or liquid form. They are low-temperature 'aquatic' environments involved in the large-scale transport of matter and energy, and so participate in the aerial connection between ecosystems, although it is still questionable whether clouds themselves can be considered as ecosystems.

It is assumed that the liquid and super-cooled water from which the free tropospheric clouds are composed provides a better temporary habitat for living airborne cells than dry air, where desiccation can be a limiting factor for growth. Thus cloud droplets may provide a medium in which these cells can divide, as suggested by Dimmick *et al.* (1979), Fuzzi *et al.* (1997) and Sattler *et al.* (2001). However, cloud water

presents some specific characteristics such as acidic pH (generally from 3 to 7), high oxidative capacity, the presence of toxic compounds such as formaldehyde, high light (including UV) exposure, and relatively low temperatures (from –15 to 10 °C at Puy de Dôme – see http://www.obs.univ-bpclermont.fr/observ/chimie/DATA/pdd_Choix.html). As a consequence, cells may require special physiological properties to remain alive in such an environment. To date, very few data are available concerning the microbial population in clouds. The reported total number of microorganisms in cloud water ranges from about 10³ to 10⁵ cells mL⁻¹ of cloud water (Sattler *et al.*, 2001; Bauer *et al.*, 2002; Amato *et al.*, 2005). Fuzzi *et al.* (1997) searched for cultivable cells in fog water at low altitude, and retrieved only three bacterial genera (*Pseudomonas*, *Bacillus* and *Acinetobacter*), and several fungi and yeasts. In tropospheric clouds, we

previously observed (Amato *et al.*, 2005) a more diversified cultivable population, consisting of many bacterial and fungal phyla. Many bacterial colonies were pigmented or spore-forming, and, as shown by their identification, some were closely related to strains isolated from cold environments. This cultivable fraction was found to represent only a small proportion of the total cells ($< 1\%$), but our measurements of ATP concentration in cloud water support the conclusion that most of the bacteria were still alive and certainly metabolically active (unpublished data). In addition, Amato *et al.* (2005) have shown that these bacterial strains contain the enzymatic equipment necessary to transform monoacid compounds (acetate, lactate, formate) as well as formaldehyde and methanol, which are present in relatively large concentrations in cloud water or are of primary interest in atmospheric chemistry (Suzuki *et al.*, 1998; Marinoni *et al.*, 2004). Our results, together with those reported by Ariya and coworkers (Ariya *et al.*, 2002; Ariya & Amyot, 2004) in the case of diacid compounds, suggest a possible role of microorganisms in atmospheric chemistry. In order to confirm this hypothesis further, more data are needed describing the microbial population in clouds. We therefore present here the identification of culturable bacteria, yeasts and fungi isolated from seven cloud-water samples collected during different periods of the year. Growth ability at low temperatures was also investigated. This work constitutes the first large description of microbial living content to be found in cloud water.

Material and methods

Cloud sampling

The method and site of sampling are identical to those described in Amato *et al.* (2005). Sampling took place at the Puy de Dôme summit (1464 m a.s.l.), which is frequently covered by clouds, using a sterilized cloud-droplet impactor (Kruisz *et al.*, 1993). The Puy de Dôme is fairly isolated from the other mountains of the Dôme mountain range, and the summit is mostly covered by grass. We therefore do not expect any interaction prior to sampling between cloud droplets and vegetation. In addition, the absence of dust particles in cloud water indicates a limited contribution of local soils to the cloud composition.

Bacteria, yeast and fungi isolation

Volumes of 0.1 mL^{-1} of cloud water were plated directly after sampling onto three different nutrient agar media, namely Trypcase Soy (TS; Biomerieux, Marcy l'Etoile, France), used as a general medium, R2A (Reasoner & Geldreich, 1985; DIFCO, Le Pont de Claix, France) for oligotrophic microbial strain recovery, and Sabouraud (DIFCO, Le Pont de Claix, France), a medium suited to

fungal growth. Triplicates were performed for each medium at both 27°C and 15°C . After 3–5 days of dark aerobic incubation, each morphologically distinct colony was isolated by transplantation on the same media to obtain pure cultures.

A total of 128 microbial strains were isolated from seven cloud events, sampled between December 2003 and September 2004, including 71 bacterial, 42 fungal and 15 yeast strains.

Growth temperature tests for bacteria

The potentialities of strains isolated as colonies to grow at 5, 17 and 27°C were investigated. First, each bacterial strain was incubated at 5, 17 and 27°C in one of its specific media (R2, Emerson or Trypcase Soy broths); and second, 1 mL^{-1} was transferred into 20 mL^{-1} of the same medium and incubated once again at 5, 17 and 27°C . Therefore each strain was tested under different temperatures for preculture and for subsequent culture. Growth was monitored by measuring OD at 575 nm for about 120 h (5 days), and the slopes obtained during the exponential phases were used to calculate growth rates. In the case of filamentous bacteria and fungi these measurements were not possible as these organisms formed macroscopic pellets of cells during growth.

Strain identifications

Fungi and yeasts were isolated from single colonies and their identifications were carried out using microscopic observations and physiological tests at the Centraalbureau voor Schimmelcultures (CBS, Utrecht, the Netherlands). Bacteria were discriminated from eukaryotic cells (yeasts) by rapid microscopic observations and identified according to their 16S rRNA gene sequence. Cell pellets obtained after centrifugation of liquid pure cultures were resuspended in phosphate-buffered saline (PBS) solution, and their total genomic DNA was extracted using an Easy DNA Kit (Invitrogen sarl, Cergy Pontoise, France). Extracts were checked by gel electrophoresis, and 16S rRNA genes were amplified by PCR. This step was carried out using universal primers for *Eubacteria*: F8-Eub (5'-AGA GTT TGA TCM TGG CTC-3') and 1492r-Univ (5'-GNT ACC TTG TTA CGA CTT-3') (Humayoun *et al.*, 2003), in which M corresponds to A or C, and N to one of the four nucleotides indifferently. About 100 ng of genomic DNA and 1.5 U of Taq Polymerase (QBiogene, Illkirch, France) were used. PCR was performed as follows: 25 cycles of 30 s at 94°C for DNA denaturizing, 30 s at 55°C for hybridization with primers, and 90 s at 72°C for elongation, preceded by 5 min at 94°C and completed by 7 min at 72°C . PCR products were checked by gel electrophoresis, and purified on column using a Strataprep Purification Kit (Stratagene, Amsterdam,

the Netherlands). They were finally freeze-dried and sequenced by capillary electrophoresis (MWG-Biotech, Roissy CDG, France), using the previously described primer F8-Eub. Comparisons of sequences with those included in GenBank were performed with the BLASTN interface, available at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>, in order to obtain the closest neighbours and gain information about the isolation source of these neighbours.

Results and discussion

Description of cultivable fungi and yeasts

Table 1 gives detailed identification of the isolated yeast and fungal strains and their occurrence in our samples. Among the 42 fungi and the 15 yeasts isolated, 13 and three, respectively, were taxonomically identified. Although culturable methods present well-known limitations, a remarkable point is the wide variety of the retrieved strains, belonging to *Ascomycota*, *Basidiomycota* and *Deuteromycota* groups. Amongst *Ascomycota*, genera *Cladosporium* (four strains), *Aspergillus* (two strains, including a teleomorph

form *Eurotium*), and *Penicillium* (two strains) appear to be the most abundant. In the *Basidiomycota* phylum, seven *Polyporales* (genera *Ganoderma*, *Phanerochaeta*, *Polyporus* and four strains of *Trametes*), six *Agaricales* (one from the genus *Schizophyllum* and five strains not precisely identified) and one *Boletales* (*Coniophora* sp.) were found. Moreover, four strains belonging to the *Deuteromycota* embranchment were successfully identified (one *Trichoderma* sp. and three yeast strains: two *Cryptococcus* and one *Pseudozyma*).

All the cited genera are commonly found in natural environments, in soil and/or on vegetation. Most of them are saprophytic, growing on and causing decay of dead organic matter (plant and tree debris), or are phytopathogenic (*Botrytis cinerea*, *Fusarium avenaceum*, *Verticillium nigrescens* and *Ganoderma* sp.).

Fungal spores are frequently found in the air, and most of the genera cited here have previously been described in such environments. Genera such as *Botrytis*, *Penicillium*, *Cladosporium* and *Aspergillus* have been retrieved from indoor dry-air samples (Lin et al., 1999; Radon et al., 2002). *Aspergillus* and *Cladosporium* are certainly the genera most described in microbial studies of the atmosphere: in addition to their

Table 1. Isolated fungal and yeast strains, and respective main isolation sources and characteristics

Strain	Phylum	Common isolation sources and main characteristics	Number of isolates
Fungi			
<i>Acremonium</i> sp.	<i>Ascomycota</i>	Soil, plant debris; saprophytic	1
<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Ascomycota</i>	Air, soil, decaying organic matter; saprophytic	1
<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Ascomycota</i>	Plants; phytopathogenic	1
<i>Cladosporium</i> spp.	<i>Ascomycota</i>	Wide spread, soil, plants; saprophytic	4
<i>Coniophora</i> sp.	<i>Basidiomycota</i>	Wood; saprophytic	1
<i>Eurotium rubrum</i>	<i>Ascomycota</i>	Soil; saprophytic; Teleomorph form of <i>Aspergillus rubrobrunneus</i>	1
<i>Fusarium avenaceum</i>	<i>Ascomycota</i>	Plants; phytopathogenic	1
<i>Ganoderma</i> sp.	<i>Basidiomycota</i>	Trunks; intense sporing; parasitic and saprophytic	1
<i>Penicillium</i> cf. <i>sclerotiorum</i>	<i>Ascomycota</i>	Soil; saprophytic	1
<i>Penicillium thomii</i>	<i>Ascomycota</i>	Wide spread; sea water, plants, soil; saprophytic	1
<i>Phanerochaeta</i> sp.	<i>Basidiomycota</i>	Wood; saprophytic	1
<i>Plectosphaerella cucumerina</i>	<i>Ascomycota</i>	Soil, decaying vegetation; saprophytic; teleomorph from of <i>Plectosporium tabacinum</i>	1
<i>Podospora</i> sp.	<i>Ascomycota</i>	Herbivore dung; coprophilous	1
<i>Polyporus tuberaster</i>	<i>Basidiomycota</i>	Decaying wood; saprophytic	1
<i>Schizophyllum</i> sp.	<i>Basidiomycota</i>	Dead wood; saprophytic	1
<i>Trametes</i> spp.	<i>Basidiomycota</i>	Stumps, decaying wood; saprophytic	4
<i>Trichoderma citrinoviride</i>	<i>Deuteromycota</i>	Decaying wood and vegetation; saprophytic	1
<i>Verticillium nigrescens</i>	<i>Ascomycota</i>	Plant; phytopathogenic	1
<i>Agaricales</i> indet.	<i>Basidiomycota</i>	–	5
ND	–	–	13
	Total		42
Yeasts			
<i>Cryptococcus albidus</i>	<i>Deuteromycota</i>	Soil, water, leaves, air; saprophytic	1
<i>Cryptococcus laurentii</i>	<i>Deuteromycota</i>	Water, plants; saprophytic	1
<i>Pseudozyma</i> sp.	<i>Deuteromycota</i>	Plant materials; parasitic	1
ND	–	–	12
	Total		15

ND, Not determined.

being detected indoors, they are widespread in outdoor air (Fulton, 1966b; Baxter & Cookson, 1983; Katial *et al.*, 1997; Durand *et al.*, 2002; Wittmaack *et al.*, 2005), and also in nonprecipitating atmospheric water in the case of *Aspergillus* (Fuzzi *et al.*, 1997; Amato *et al.*, 2005). Concerning *Cladosporium* spp., not yet described in cloud water, their presence in our samples is not surprising in view of the number of studies reporting their presence in the air. Because *in situ* contamination can be excluded, it appears that, as for the other identified genera, *Cladosporium* spp. are integrated into droplets during cloud formation, meaning that such fungal spores can reach quite high altitudes despite their size, and can be transported over long dis-

tances. This remark also holds true for *Trichoderma* and *Fusarium* genera, collected at high altitude by Fulton (1966a), and also found in our cloud samples. Concerning yeasts, *Cryptococcus* members have been retrieved in alpine habitats, where they appeared as cold-adapted microorganisms (Bergauer *et al.*, 2005).

Description of cultivable bacterial population

Table 2 presents a detailed view of bacterial genera cultured from each sample. The majority of bacterial isolates (61 from the 71 isolates) were successfully identified by sequencing their 16S rRNA gene and making a comparison with

Table 2. Detailed bacterial strain isolation for each cloud event sampled

Phylum	Genus	12/12/ 2003	01/15/ 2004	01/21/ 2004	02/16/ 2004	06/24/ 2004	07/08/ 2004	09/23/ 2004	Number of isolated strains
Actinobacteria	<i>Streptomyces</i>		1		1	1		2	5
	<i>Arthrobacter</i>	1	2		1				4
	<i>Micrococcus</i>	1			1	1			3
	<i>Saccharothrix</i>			1					1
	<i>Kocuria</i>				1				1
	<i>Agromyces</i>	1							1
	<i>Cellulomonas</i>	1							1
	<i>Tetrasphaera</i>	1							1
	<i>Leucobacter</i>	1							1
	<i>Luteococcus</i>		1						1
	<i>Agrococcus</i>				1				1
	<i>Curtobacterium</i>						1		1
	<i>Frigoribacterium</i>							1	1
	<i>Nocardioide</i>				1				1
	Uncertain genus*	1				1			2
	Total	7	4	1	6	3	1	3	25
Firmicutes	<i>Staphylococcus</i>	2	4	1					7
	<i>Bacillus</i>	1	1		1				3
	<i>Paenibacillus</i>				1				1
	Unidentified Bacilliales*					1			1
	Total	3	5	1	2	1	0	0	12
Bacteroidetes	<i>Pedobacter</i>			1					2
	<i>Flavobacterium</i>							1	1
	<i>Sphingobacterium</i>							1	1
	Total	0	0	1	0	0	0	2	3
Alphaproteobacteria	<i>Sphingomonas</i> sp.	2			2			2	6
	<i>Methylobacterium</i>				1				1
	<i>Aurantimonas</i>				1				1
	Total	2	0	0	4	0	0	2	8
Betaproteobacteria	<i>Massilia</i>	1							1
	<i>Zoogloea</i>	1							1
	Total	2	0	0	0	0	0	0	2
Gammaproteobacteria	<i>Pseudomonas</i>	1		1		1	2	3	8
	<i>Moraxella</i>		2						2
	<i>Pantoea</i>					1			1
	Total	1	2	1	0	2	2	3	11
Not determined		4	5		1				10
	Total	19	16	4	13	6	3	10	71

*Genus not accessible with sequenced fragment length.

sequences in GenBank. Partial sequences have been lodged in GenBank, and accession numbers are specified in Tables 3 and 4.

General overview

Although only culturable bacteria were identified from the cloud-water samples, and not the total bacterial population, a large variety distributed among at least 28 genera can be described. Among the 61 isolates identified, 37 Gram-positive (61%) (25 *Actinobacteria* and 12 *Firmicutes*) and 24 Gram-negative (39%) (three *Bacteroidetes*, eight *Alphaproteobacteria*, two *Betaproteobacteria* and 11 *Gammaproteobacteria*) strains were found. The predominance of Gram-positive strains cultured from cloud water is consistent with previous works, showing that the Gram-positive cultivable fraction is generally more abundant in air than the Gram-negative one. Shaffer & Lighthart (1997) found about 80% of the cultivable population to be affiliated to Gram-positive phyla in dry air. This is supported by laboratory experiments showing that Gram-negative bacteria lose cultivability after being aerosolized (Heidelberg et al., 1997).

Actinobacteria was the most important phylum in terms of number of isolates and of genera represented: we found this affiliation for about half of the total number of genera identified. Genera *Streptomyces* (four strains), *Arthrobacter* (four strains) and *Micrococcus* (two strains) were the dominant ones, others (at least 11 different genera) being represented by only a single strain. The other phylum of Gram-positive bacteria (*Firmicutes*) was also highly represented, with respectively five and three distinct strains of the genera *Staphylococcus* and *Bacillus*.

Although the Gram-positive population is spread evenly amongst a great number of genera, the less-well represented Gram-negative group includes a few genera that are particularly dominant, namely *Pseudomonas* (*Gammaproteobacteria*) and *Sphingomonas* (*Alphaproteobacteria*), with respectively seven and five distinct strains isolated. These two genera are found to be the most abundant ones amongst all isolates. Only a few *Betaproteobacteria* and *Bacteroidetes* (also called *Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides*, CFB-group) were cultured from the samples, with respectively only two and three strains from these phyla.

Shaffer & Lighthart (1997) retrieved especially the genera *Bacillus* and *Curtobacterium* in their air samples. They also cited *Arthrobacter* and *Micrococcus* as being present. As in our observations of cloud droplets, *Pseudomonas* was the most abundant Gram-negative genus that they recovered from air samples. In another study focusing on airborne microbial content in an urban environment, cultivable *Staphylococcus* was found to be the predominant genus (Mancinelli & Shulls, 1978). *Staphylococcus* genus is also well represented in one of our samples, but back-trajectory

plotting and chemical analysis (not shown) did not reveal any special urban influence on its composition. There is very little literature concerning the microbial content of cloud water; however, in fog, *Bacillus* and *Pseudomonas* seem to be the most commonly cultivated genera (Fuzzi et al., 1997). In a previous work based on only two cloud events at the Puy de Dôme (Amato et al., 2005), we also isolated *Pseudomonas* and *Bacillus* species, in addition to other genera such as *Streptomyces*, *Micrococcus*, *Microbacterium*, *Flavobacterium*, *Kocuria*, *Arthrobacter*, and *Clavibacter*.

Detailed identification of bacteria

Blast results obtained from the 16S rRNA gene sequences of our Gram-positive and Gram-negative isolates are respectively shown in Table 3 and 4. All sequences matched with known ones by a value at least as high as 97%, except for one that reached 96% (5b-7). Strains closely related to our isolates from cloud water were obviously from various origins, which can be regrouped as follows: aquatic environments (surface and ground water), extreme cold environments (polar and glacier samples, frozen soils), soil (sediment and other soils), vegetation (grass and plant leaves), and fauna (insects and other animals). A few strains cannot be included in these groups: strains 3b-4 (referenced as undetermined *Actinobacterium*) and 3b-20 (*Leucobacter aridicollis*) are *Actinobacteria* closely related to isolates from chromium- and nuclear-contaminated environments, while 3b-6 (*Bacillus simplex*) and 3b-19 (*Massilia* sp.) are neighbours to isolates recovered from mural painting and clean-rooms. In eight cases, the isolation source was not available.

The Gram-positive group appears to have a wide range of origins. Here we found highly diversified neighbour strains, from human-blood isolates (5b-7, *Luteococcus sanguinus*), to ancient Siberian permafrost (5b-15, *Arthrobacter* sp.) and sugar beet (13b-4, *Curtobacterium flaccumfaciens*). This suggests that, rather than being limited to carrying strains of environmental origin, clouds can also carry some potentially human pathogenic germs alive. Interestingly, many of the Gram-positive strains are close to isolates from zones such as deep-sea or coastal sediments, or groundwater. This particularly concerns the genera *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Streptomyces* and *Arthrobacter*. Genera such as *Micrococcus*, *Bacillus* and *Staphylococcus* are widespread in a large variety of environments, and are also present in cloud water.

Alphaproteobacteria isolates mainly belong to the genus *Sphingomonas*, but also to *Methylobacterium* (7b-5) and *Aurantimonas* (7b-14). All of them are closely related to microorganisms found in cold environments, and this group is broadly more often isolated from extreme cold environments (Christner et al., 2001; Zhang et al. 2002; Foght et al., 2004). Their physiological properties certainly make them fitted to living in an environment comparable to

Table 3. Gram-positive isolates

Phylum	Strain	Seq. length (bp)	A.N	Date of sampling	Closest related neighbour	A.N	% homology (bp)	Isolation source	Growth rate (OD/h)			
									at 5 °C	at 17 °C	at 27 °C	
Actinobacteria	3b-2	869	DQ512738	12/12/2003	Micrococcus luteus isolate CV39	AJ717368	99% (869/872)	Alkaline groundwater				
	3b-4	860	DQ512739	12/12/2003	Actinobacterium RG-9	AY561575	99% (852/860)	High-Level Nuclear Waste-Contaminated				
	3b-5	679	DQ512740	12/12/2003	Agromyces neolithicus strain 23-23	AY507128	98% (642/652)	Not available				
	3b-7	836	DQ512742	12/12/2003	Arthrobacter rhombi strain F98.3HR69	Y15885	99% (828/836)	Greenland halibut				
	3b-8	510	DQ512743	12/12/2003	Cellulomonas sp. 73NP9	AB242681	99% (507/510)	Tomato leaf				
	3b-18	790	DQ512754	12/12/2003	Tetrasphaera sp. Ellin150	AF408992	98% (777/792)	Pasture soil				
	3b-20	848	DQ512748	12/12/2003	Leucobacter aridicollis type strain L9	AJ781047	99% (842/847)	Chromium contaminated environment				
	5b-4	698	DQ512755	01/15/2004	Streptomyces albidoflavus	AJ002090	99% (698/699)	Not available				
	5b-7	652	DQ512756	01/15/2004	Luteococcus sanguinus strain CCUG 33897T	AJ416758	96% (599/619)	Human blood				
	5b-11	566	DQ512758	01/15/2004	Arthrobacter sp. isolate An29	AJ551167	100% (566/566)	Deep sea sediment		+++	+++	+++
	5b-15	545	DQ512760	01/15/2004	Arthrobacter sp. 255-8a	AY444852	99% (542/545)	Ancient Siberian permafrost				
	6b-3	805	DQ512765	01/21/2004	Saccharothrix tangerinus strain:MK27-91F2	AB020031	98% (793/806)	Not available				
	7b-1	779	DQ512767	02/16/2004	Streptomyces ciscaucasicus strain DSM 40275	AY508512	99% (774/781)	Not available				
	7b-2	766	DQ512768	02/16/2004	Agrococcus jenensis	X92492	100% (766/766)	Frozen compost soil		+	+	+
	7b-4	605	DQ512769	02/16/2004	Micrococcus luteus CV31	AJ717367	99% (903/905)	Alkaline groundwater				
	7b-7	659	DQ512772	02/16/2004	Rhizosphere soil bacterium isolate RSI-25 (Nocardioides sp.)	AJ252592	99% (658/659)	Rhizosphere soil		–	–	–
	7b-9	647	DQ512773	02/16/2004	Arthrobacter oxydans	X83408	99% (646/648)	Not available		–	–	++
7b-12	529	DQ512775	02/16/2004	Kocuria rhizophila	Y16264	99% (528/529)	Cattail of swamp plant					
12b-4	398	DQ512779	06/24/2004	Uncultured bacterium clone C13_D15	AY991105	98% (395/399)	Mouse caecum		++	++	+++	
12b-6	777	DQ512781	06/24/2004	Micrococcus luteus CV31	AJ717367	100% (777/777)	Alkaline groundwater		++	++	+++	

Table 3. Continued.

Phylum	Strain	Seq. length (bp)	A.N	Date of sampling	Closest related neighbour	A.N	% homology (bp)	Isolation source	Growth rate (OD/h)			
									at 5 °C	at 17 °C	at 27 °C	
Firmicutes	12b-10994	DQ512784	DQ512784	06/24/2004	<i>Streptomyces albidoflavus</i>	AJ002090	99% (991/994)	Not available	–	–	–	
	13b-4 934	DQ512787	DQ512787	07/08/2004	<i>Curvobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>Beticola</i>	AY273208	100% (934/934)	Sugar beet	–	+	++	
	14b-9 470	DQ512793	DQ512793	09/23/2004	<i>Streptomyces</i> sp. N0143	AY754724	100% (470/470)	Coastal sediment	–	–	–	
	14b-12982	DQ512795	DQ512795	09/23/2004	<i>Streptomyces</i> sp. N0130	AY754722	99% (980/984)	Coastal sediment	–	–	–	
	14b-13427	DQ512796	DQ512796	09/23/2004	<i>Frigoribacterium</i> sp. GIC6	AY439262	99% (418/422)	Glacial ice core from Greenland	–	++	+	
	3b-6 1393	DQ512741	DQ512741	12/12/2003	<i>Bacillus simplex</i> strain LMG 21002A1316308	AY462205	100% (1397/1397)	Mural painting environment	–	++	++++	
	3b-15 953	DQ512752	DQ512752	12/12/2003	<i>Staphylococcus epidermidis</i> isolate CV64	AJ717377	99% (950/952)	Alkaline groundwater	–	–	–	
	3b-16 942	DQ512753	DQ512753	12/12/2003	<i>Bacterium</i> G24 (<i>staphylococcus</i> sp.)	AY345395	99% (936/941)	Green Lake water	–	–	–	
	5b-1 897	DQ512749	DQ512749	01/15/2004	<i>Bacillus pumilus</i> strain DF20	AY462205	99% (896/898)	Not available	–	–	–	
	5b-3 896	DQ512750	DQ512750	01/15/2004	<i>Bacterium</i> G24 (<i>staphylococcus</i> sp.)	AY345395	100% (896/896)	Green Lake water	–	++	++	
	5b-6 890	DQ512751	DQ512751	01/15/2004	<i>Staphylococcus cohnii</i> isolate CV38	AJ717378	100% (889/889)	Alkaline groundwater	–	+++	+++	
	5b-8 898	DQ512757	DQ512757	01/15/2004	Uncultured <i>Staphylococcus</i> sp. clone: MgMJD-019	AB234514	99% (897/898)	Gut of a fungus-growing termite	–	+++	++	
	5b-16 722	DQ512761	DQ512761	01/15/2004	<i>Staphylococcus equorum</i> strain JH6	DQ232735	100% (722/722)	Poultry farm	++	+++	+++	
	6b-1 961	DQ512763	DQ512763	01/21/2004	<i>Bacterium</i> G24 (<i>staphylococcus</i> sp.)	AY345395	99% (961/962)	Green Lake water	–	++	++++	
	7b-6 667	DQ512771	DQ512771	02/16/2004	<i>Paenibacillus</i> sp. isolate Eint3	AM062705	100% (667/667)	Lichen	+	+	+	
	7b-11 849	DQ512774	DQ512774	02/16/2004	<i>Bacillus licheniformis</i> strain HK-1	AY530960	99% (847/850)	Poultry waste	–	+	+	
	12b-7 755	DQ512782	DQ512782	06/24/2004	<i>Bacillales bacterium</i> s50-7-u8f	DQ305315	99% (750/755)	Rice field soil	–	–	+	

Genera and species names refer to the closest neighbour's established through a BLAST search. Growth rates observed at 5 °C, 17 °C and 27 °C are indicated where established. ¹Growth rates (OD/h) during the exponential phase of growth) are –, < 0.02; +, 0.02–0.049; ++, 0.05–0.29; +++, 0.3–0.59; +++++, > 0.6.

A.N, accession number in GenBank.

Table 4. Gram-negative isolates

Phylum	Strain	Seq. length (bp)	A.N	Date of sampling	Closest related neighbour	A.N	% homology (bp)	Isolation source	Growth rate (OD/h)		
									at 5 °C	at 17 °C	at 27 °C
Bacteroidetes	6b-2	804	DQ512764	01/21/2004	<i>Pedobacter</i> sp. type strain HHS22	AJ583425	99% (792/800)	Himalayan glacier			
	14b-7	898	DQ512791	09/23/2004	<i>Flavobacterium</i> sp. EP101	AF493649	98% (862/873)	River taff epilithon	+	–	–
	14b-8	768	DQ512792	09/23/2004	Uncultured <i>Sphingobacterium</i> sp. done TM15_56	DQ279367	97% (733/748)	Truffle	–	+	+
	3b-10	1007	DQ512744	12/12/2003	<i>Sphingomonas</i> sp. Pmxh3	DQ314734	99% (1004/1007)	Subnival plant			
	3b-11	609	DQ512745	12/12/2003	<i>Sphingomonas</i> sp. TSBY-61	DQ166168	99% (608/609)	Frozen soil			
Alphaproteobacteria	7b-5	682	DQ512770	02/16/2004	<i>Methylobacterium</i> sp. strain: PB73AB220078		100% (682/682)	Terrestrial freshwater			
	7b-13	784	DQ512776	02/16/2004	<i>Sphingomonas</i> sp. M3C2038-B	AF395031	99% (784/785)	Antarctic subglacial lake	+	++	++
	7b-14	703	DQ512777	02/16/2004	Endophytic bacterium Enf15 (closely related to <i>Aurantimonas</i> sp.)	DQ339602	100% (703/703)	Vostok Alpine subnival plants	–	++	++
	7b-15	858	DQ512778	02/16/2004	Glacier bacterium FXS25 (<i>Sphingomonas</i> sp.)	AY315166	97% (841/859)	New Zealand subglacial sediments	++	+++	+++
	14b-5	950	DQ512789	09/23/2004	<i>Sphingomonas</i> sp. M3C2038-B	AF395031	99% (950/952)	Antarctic subglacial lake			
	14b-6	968	DQ512790	09/23/2004	<i>Sphingomonas</i> sp. isolate J05	AJ864842	99% (960/964)	High mountain lake water	–	+	–
	3b-12	1000	DQ512746	12/12/2003	<i>Zoogloea ramigera</i> ATCC 25935	X74914	99% (921/930)	Trickling filter of a sewage plant	++	+++	++
	3b-19	869	DQ512747	12/12/2003	Uncultured <i>Massilia</i> sp. clone KL-11-1-5	AF408326	98% (860/869)	Clean-room facility			
	3b-1	858	DQ512737	12/12/2003	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>coryli</i> strain NCPB 4273	AJ889841	99% (852/854)	Hazelnut			
	5b-14	815	DQ512759	01/15/2004	<i>Moraxella osloensis</i>	AY043376	99% (814/815)	Respiratory secretions			
Gammaproteobacteria	5b-17	808	DQ512762	01/15/2004	<i>Moraxella phenylpyruvica</i>	AF005192	99% (791/792)	Spinal fluid			
	6b-4	813	DQ512766	01/21/2004	<i>Pseudomonas rhizosphaerae</i>	AY152673	98% (799/813)	Rhizospheric soil of grasses	+	++	+
	12b-5	655	DQ512780	06/24/2004	<i>Pantoea agglomerans</i>	AY395012	99% (652/656)	Moth larval midgut		+++	+++
	12b-8	719	DQ512783	06/24/2004	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>atropurpurea</i>	AB001440	99% (718/720)	Graminaceous grass	+	+++	+++

Table 4. Continued.

Phylum	Strain	Seq. length (bp)	Date of sampling	Closest related neighbour	A.N	% homology (bp)	Isolation source	Growth rate (OD/h)			
								at 5 °C	at 17 °C	at 27 °C	
	13b-2	887	07/08/2004	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. atropurpurea	AB001440	100% (887)	Graminaceous grass				
	13b-3	1004	07/08/2004	<i>Pseudomonas graminis</i>	Y11150	99% (1003)	Phyllosphere of grasses	+	+	++	
	14b-2	898	09/23/2004	<i>Pseudomonas</i> sp. SE22#1a	AY263477	99% (896)	Alpine soil	+	++	++	
	14b-10	780	09/23/2004	<i>Pseudomonas</i> sp. PH20A	AY835585	100% (780)	Leaf spots of bean				
	14b-14	854	09/23/2004	<i>Pseudomonas viridiflava</i> strain RMX23.1a	AY574912	100% (854)	<i>Arabidopsis thaliana</i>	+	+	–	

Genera and species names refer to the closest neighbours established through a BLAST search. Growth rates observed at 5 °C, 17 °C and 27 °C are indicated where established. Growth rates (OD/h during the exponential phase of growth) are –, < 0.02; +, 0.02–0.049; ++, 0.05–0.29; +++, 0.3–0.59; +++++, > 0.6. A.N., accession number in GenBank.

cloud water, as the low nutrient levels and cold conditions improve their survival rate. *Gammaproteobacteria* are for their part largely represented by *Pseudomonas* spp. (eight isolates out of 11), with the additional presence of two *Moraxella* spp. strains and one *Pantoea agglomerans*. Vegetation appears to be the major source of *Pseudomonas*, but this genus is known to be very ubiquitous and its presence was not surprising here. Furthermore, *Pseudomonas* have even been recovered from environments such as old glacial ice (about 750 000 years old) (Christner et al., 2003), testifying to their high resistance to extreme conditions. The strains from our cloud samples were often phytopathogenic, such as the example of *P. syringae* (3b-1, 12b-8 and 13b-2) (Sawada et al., 1997; Scortichini et al., 2002). For such strains, air constitutes an important way of dissemination, and their occurrence in our samples was to be expected. To retrieve *P. syringae* in cloud water is also of interest regarding the role that such a bacterium could play in the physics and chemistry of clouds. First, this species was found in Antarctic samples and is capable of cold adaptation (Seshu Kumar et al., 2002). Second, it has been demonstrated to have a very efficient ice-nuclei-forming activity (Cochet & Widehem, 2000), signifying its potential ability to initiate ice-crystal formation in supercooled clouds at relatively high temperatures. In the past, Schnell & Vali (1972) and Lindemann et al. (1982) suspected ice-nuclei to be produced in relation to vegetation, but *P. syringae* had not then been described in cloud samples. In addition, other species found in our samples are known to have a substantial ice-nuclei activity, for example bacteria of *Pantoea* affiliation and the fungi *Fusarium avenaceum* (Pouleur et al., 1992). We provide here proof of their regular presence in cloud droplets at different periods of the year, and it is therefore likely that such microorganisms are involved in microphysical processes occurring in clouds.

Other *Gammaproteobacteria* isolates (*Moraxella*) are more related to fauna emissions. The two last phyla of Gram-negative bacteria that were detected, *Betaproteobacteria* and *Bacteroidetes*, were more sporadic, but the presence of the *Pedobacter* sp. (6b-2), very similar to an isolate from a Himalayan glacier, can be noted (Shivaji et al., 2005).

Five bacterial strains were found several times in different samples. These were two *Actinobacteria* species [*Streptomyces albidoflavus* from a nonspecified source (5b-4 and 12b-10), and *Micrococcus luteus* CV31 from alkaline groundwater (7b-4 and 12b-6)], one *Firmicutes* [*Bacterium* G24, which is of *Staphylococcus* affiliation (3b-16, 5b-3 and 6b-1)], one *Gammaproteobacteria* [*Sphingomonas* sp. M3C203B-B from the Antarctic subglacial lake Vostok (7b-13 and 14b-5)], and one *Gammaproteobacteria* [*Pseudomonas syringae* pv. atropurpurea from graminaceous plant (12b-8 and 13b-2)].

Variations of bacterial composition with season

The results presented in Table 2 show that the total number of cultivable bacteria varies from one cloud event to another. In this section we briefly discuss the influence of the season on these variations. During summer, the proportion of Gram-positive cultivable bacteria (42.1% of the isolates) was less than that of Gram-negative ones (57.9% of the isolates). From summer to winter, the relative proportion of each group (Gram-positive and Gram-negative) changed, and the Gram-negative group became dominant.

In snow samples collected at an altitude of about 2500 m in Japan, Segawa *et al.* (2005) observed that the Gram-positive population contributed 71% of the whole bacterial flora in March, whereas it represented not more than 13% in June, and decreased to 8% in August. This is quite similar to what was observed in our cloud samples.

A first possible reason explaining the decrease of Gram-positive isolates in summer could be their greater sensitivity to the damaging effects of UV, more important in summer, as compared with Gram-negative ones. Recently, Aguogué *et al.* (2005) showed that *Gammaproteobacteria* (Gram-negative) was the more represented group among the highly resistant to solar radiation bacteria isolated from the surface of the sea. A second reason could very possibly be the influence of summer on the preferential occurrence of microbial strains on vegetation which is far more developed in summer than in winter. Figure 1 gives a more detailed bacterial composition for the two periods, providing averages of the occurrence of each phylum per sample, and confirms our two previous hypotheses. First, it shows that the observed difference between winter and summer is in great part the result of a decrease in the *Firmicutes* proportion from 21% to 5%, combined with an increase in *Gammaproteobacteria* from 8% to 37%. Such a fact can be supported by the higher resistance of *Gammaproteobacteria* to solar radiation, as previously mentioned. Second, the

development of vegetation in summer could also explain the increase of this phylum, which includes the *Pseudomonas* genus, well known to grow on plants.

Abilities to grow at low temperatures

Some isolated strains were tested for their aerobic growth at 5, 17 and 27 °C. The results are presented in Tables 3 and 4. Atmospheric temperature is recorded continuously at puy de Dôme (VAISALA PT 100 sensor), showing an average value of 5.2 ± 1.2 °C. The lowest incubation temperature was therefore chosen in the range of this mean annual temperature. It is also interesting to note that winter-time temperatures at puy de Dôme regularly go down to -15 °C. Twenty strains were tested for the three temperatures, and for eleven others only the 17 and 27 °C tests could be performed because of technical problems. For convenience, we created four classes of growth ability according to the growth rates expressed as OD values per hour (see legends of Tables 3 and 4).

For two strains (7b-7 *Nocardioides* sp. and 5b-1 *Bacillus pumilus*), the growth rates remained very low whatever the temperature investigated.

Six strains out of 38 tested (about 16%) grew faster at 27 °C than at 5 and 17 °C. All of them are of Gram-positive affiliation: they include four *Actinobacteria* and two *Firmicutes* strains. Some strains are of special interest because they grow better at 17 °C: 14b13 (*Frigobacterium* sp.), 5b8 (*Staphylococcus* sp.), 6b4 (*Pseudomonas rhizosphaerae*), and 3b12 (*Zoogloea ramigera*). The two last strains also grow at 5 and 27 °C, and can thus be considered as psychrotolerant.

More interesting for this study of clouds are those strains able to grow at a low temperature close to the natural atmospheric environment, i.e. 5 °C. This was the case for 11 strains out of 20 tested (about 55%), including five *Gammaproteobacteria* (*Pseudomonas* spp.), two *Firmicutes* (*Paenibacillus* sp., and *Staphylococcus* sp.), two

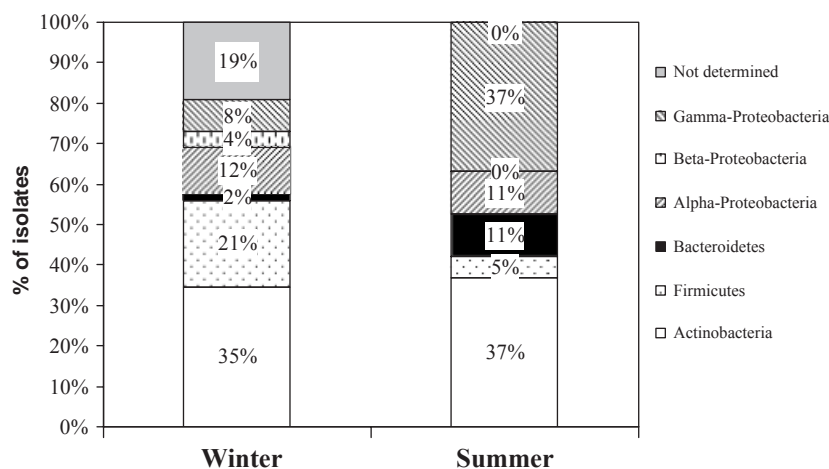


Fig. 1. Global composition in aerobic cultivable bacteria during winter and summer. The contribution of each phylum to an averaged cloud-water sample is given with respect to the season.

Alphaproteobacteria (*Sphingomonas* spp.), one Betaproteobacteria (*Zoogloea ramigera*), and one Bacteroidetes (*Flavobacterium* sp.): the large majority are Gram-negative strains. It can be noted that three strains have a relatively high growth rate at 5 °C: 3b12 (*Zoogloea ramigera*), 5b16 (*Staphylococcus equorum*), and 7b15 (*Sphingomonas* sp.). Finally, two strains are also remarkable because they grow at 5 °C but not at 17 and 27 °C, and can therefore be considered as true psychrophiles: 14b14 (*Pseudomonas viridiflava*) and 14b7 (*Flavobacterium* sp.), according to the definition of Morita (1975).

Clearly, Gram-negative strains are much more efficient at growing at low temperatures, because 75% (9/12) of those tested have this capacity. Among the Gram-positive strains, only 25% (2/8) presented this ability. This is consistent with observations made on iced environments such as the poles and high mountains, where the Gram-negative community is dominant (Alfreider et al., 1996; Brinkmeyer et al., 2003; Groudieva et al., 2004). These results are also comparable with those obtained by Groudieva et al. (2004), who found only a few truly psychrophilic strains among a population dominated by psychrotolerants in a polar environment. In addition, many colonies we isolated were yellow to orange pigmented (not shown), as is often reported for bacteria cultivated from cold environments (Fong et al., 2001; Foght et al., 2004).

Conclusion

This work is the first to report an extensive study of aerobic cultivable microorganisms present in atmospheric water. This water was collected at the top of the Puy de Dôme mountain, over a period of more than a year and a half corresponding to seven cloud events. Although culture methods do not allow all members of the population to be described, they give very valuable information about the physiology of microorganisms that are really alive in clouds. This is of special interest given that the cloud medium can prevent microorganisms from surviving because of the harsh conditions such as cold temperature, UV exposure, low pH, and oxidative environment.

General considerations can be drawn concerning this population: (i) most of the isolated fungi identified were of *Cladosporium* or *Trametes* affiliation, and yeasts were also present; (ii) bacteria were found to belong to *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Proteobacteria* (*Alpha*, *Beta* and *Gamma* subclasses) and *Bacteroidetes* phyla, with dominant occurrence of the genera *Pseudomonas*, *Sphingomonas*, *Streptomyces*, *Staphylococcus* and *Arthrobacter*. The population of aerobic cultivable bacteria is dominated by strains that are highly similar, regarding their 16S rRNA gene sequence, to some isolates from cold environments, water (sea and freshwater), soil and vegetation. This study demonstrates the great

diversity of microbial population that can be found in clouds, even using only culture-dependent methods.

Comparison of the distribution of Gram-negative vs. Gram-positive bacteria as a function of season shows that summertime, with its higher light exposure, can favour the presence of Gram-negative strains, which are usually more resistant to UV damage. Finally, the numbers of the Gram-negative strains we isolated appear to be generally associated with vegetation that is obviously more present in summertime in Europe. All these parameters lead to a higher proportion of retrieved microorganisms related to Gram-negative strains during the summer.

A very important result of this study concerns the ability of an important proportion of the isolated bacteria to grow at temperatures compatible with those occurring in tropospheric clouds. These results suggest that a great proportion of bacteria present in clouds can be metabolically active in this medium. It is of special interest regarding the potential role of microorganisms in atmospheric chemistry. Work is in progress to test the abilities of these strains to transform organic compounds at low temperatures, and to determine the metabolic pathways involved under these conditions.

Acknowledgements

P.A. is the recipient of a scholarship from the French Ministry of Research. This work is supported by the National Program on Atmospheric Chemistry (PNCA) from the French CNRS and the ORE-BEAM program from the French Ministry of Research. The staff of the Microbiology Unit at the INRA of Clermont-Ferrand-Theix are acknowledged for their technical help in DNA isolation.

References

- Aguogé H, Joux F, Obernosterer I & Lebaron P (2005) Resistance of marine bacterioneuston to solar radiation. *Appl Environ Microbiol* **71**: 5282–5289.
- Alfreider A, Pernthaler J, Amann R, Sattler B, Glöckner FO, Wille A & Psenner R (1996) Community analysis of the bacterial assemblages in the winter cover and pelagic layers of a high mountain lake by in situ hybridization. *Appl Environ Microbiol* **62**: 2138–2144.
- Amato P, Ménager M, Sancelme M, Laj P, Mailhot G & Delort AM (2005) Microbial population in cloud water at the Puy de Dôme: implications for the chemistry of the clouds. *Atmos Environ* **39**: 4143–4153.
- Ariya PA & Amyot M (2004) New directions: the role of bioaerosols in atmospheric chemistry and physics. *Atmos Environ* **38**: 1231–1232.
- Ariya PA, Nepotchatykh O, Ignatova O & Amyot M (2002) Microbiological degradation of atmospheric organic compounds. *Geophys Res Lett* **29**: 2077–2081.

- Bauer H, Kasper-Giebl A, Löflund M, Giebl H, Hitenberger R, Zibuschka F & Puxbaum H (2002) The contribution of bacteria and fungal spores to the organic carbon content of cloud water, precipitation and aerosols. *Atmos Res* **64**: 109–119.
- Baxter LJ & Cookson JT (1983) Natural atmospheric microbial conditions in a typical suburban area. *Appl Environ Microbiol* **45**: 919–934.
- Bergauer P, Fonteyne PA, Nolard N, Schinner F & Margesin R (2005) Biodegradation of phenol and phenol-related compounds by psychrophilic and cold-tolerant alpine yeasts. *Chemosphere* **59**: 909–918.
- Brinkmeyer R, Knittel K, Jürgens J, Weyland H, Amann R & Helmke E (2003) Diversity and structure of bacterial communities in Arctic versus Antarctic pack ice. *Appl Environ Microbiol* **69**: 6610–6619.
- Christner BC, Mosley-Thompson E, Thompson LG & Reeve JN (2001) Isolation of bacteria and 16S rDNAs from lake Vostok accretion ice. *Environ Microbiol* **3**: 570–577.
- Christner BC, Mosley-Thompson E, Thompson LG & Reeve JN (2003) Bacterial recovery from ancient glacial ice. *Environ Microbiol* **5**: 433–436.
- Cochet N & Widehem P (2000) Ice crystallization by *Pseudomonas syringae*. *Appl Microbiol Biotechnol* **54**: 153–161.
- Dimmick RL, Wolochow H & Chatigny MA (1979) Evidence that bacteria can form new cells in airborne particles. *Appl Environ Microbiol* **37**: 924–927.
- Durand KTH, Muilenberg ML, Burge HA & Seixas NS (2002) Effect on sampling time on the culturability of airborne fungi and bacteria sampled by filtration. *Ann Occup Hyg* **46**: 113–118.
- Foght J, Aislabie J, Turner S, Brown CE, Ryburn J, Saul DJ & Lawson W (2004) Culturable bacteria in subglacial sediments and ice from two southern hemisphere glaciers. *Microb Ecol* **47**: 329–340.
- Fong NJ, Burgess ML, Barrow KD & Glenn DR (2001) Carotenoid accumulation in the psychrotrophic bacterium *Arthrobacter agilis* in response to thermal and salt stress. *Appl Microbiol Biotechnol* **56**: 750–756.
- Fulton JD (1966a) Microorganisms of the upper atmosphere – III. Relationship between altitude and micropopulation. *Appl Microbiol* **14**: 237–240.
- Fulton JD (1966b) Microorganisms of the upper atmosphere – IV. Microorganisms of a land air mass as it traverses ocean. *Appl Microbiol* **14**: 241–244.
- Fuzzi S, Mandrioli P & Peretto A (1997) Fog droplets – An atmospheric source of secondary biological aerosol particles. *Atmos Environ* **31**: 287–290.
- Groudieva T, Kambourova M, Yusef H, Royter M, Grote R, Trinks H & Antranikian G (2004) Diversity and cold-active hydrolytic enzymes of culturable bacteria associated with Arctic sea ice, Spitzbergen. *Extremophiles* **8**: 475–488.
- Heidelberg JF, Shahamat M, Levin M, Rahman I, Stelma G, Grim C & Colwell RR (1997) Effect of aerosolization on culturability and viability of Gram-negative bacteria. *Appl Environ Microbiol* **63**: 3585–3588.
- Humayoun SB, Bano N & Hollibaugh JT (2003) Depth distribution of microbial diversity in Mono lake, a meromictic soda lake in California. *Appl Environ Microbiol* **69**: 1030–1042.
- Katial RK, Zhang Y, Jones HJ & Dyer PD (1997) Atmospheric mold spore counts in relation to meteorological parameters. *Int J Biometeorol* **41**: 17–22.
- Kruisz C, Berner A & Brantner B (1993) A cloud water sampler for high wind speeds. *Proceedings of the EUROTRAC Symposium 1992* (Borell PM, ed), pp 523–525. SPB Acad, The Hague, the Netherlands.
- Lin X, Reponen TA, Willeke K, Grinshpun SA, Foarde KK & Ensor DS (1999) Long-term sampling of airborne bacteria and fungi into a non-evaporating liquid. *Atmos Environ* **33**: 4291–4298.
- Lindemann J, Constantinidou HA, Barchet WR & Upper CD (1982) Plants as sources of airborne bacteria, including ice-nucleation active bacteria. *Appl Environ Microbiol* **44**: 1059–1063.
- Mancinelli R & Shulls WA (1978) Airborne bacteria in an urban environment. *Appl Environ Microbiol* **35**: 1095–1101.
- Marinoni A, Laj P, Sellegri K & Mailhot G (2004) Cloud chemistry at Puy de Dôme: variability and relationships with environmental factors. *Atmos Chem Phys* **4**: 715–728.
- Morita RY (1975) Psychrophilic bacteria. *Bacteriol Rev* **39**: 144–167.
- Pouleur S, Richard C, Martin J-G & Antoun H (1992) Ice nucleation activity in *Fusarium acuminatum* and *Fusarium avenaceum*. *Appl Environ Microbiol* **58**: 2960–2964.
- Radon K, Danuser B, Iversen M, Monso E, Weber C, Hartung J, Donham KJ, Palmgren U & Nowak D (2002) Air contaminants in different European farming environments. *Ann Agric Environ Med* **9**: 41–48.
- Reasoner DJ & Geldreich EE (1985) A new medium for the enumeration and subculture of bacteria from potable water. *Appl Environ Microbiol* **49**: 1–7.
- Sattler B, Puxbaum H & Psenner R (2001) Bacterial growth in supercooled cloud droplets. *Geophys Res Lett* **28**: 239–242.
- Sawada H, Takeuchi T & Matsuda I (1997) Comparative analysis of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* and pv. *phaseolicola* based on phaseolotoxin-resistant ornithine carbamoyltransferase gene (*argK*) and 16S–23S rRNA intergenic spacer sequences. *Appl Environ Microbiol* **63**: 282–288.
- Schnell RC & Vali G (1972) Atmospheric ice nuclei from decomposing vegetation. *Nature* **236**: 163–165.
- Scortichini M, Marchesi U, Rossi MP & Di Prospero P (2002) Bacteria associated with hazelnut (*Corylus avellana* L.) decline are of two groups: *Pseudomonas avellanae* and strains resembling *P. syringae* pv. *syringae*. *Appl Environ Microbiol* **68**: 476–484.
- Segawa T, Miyamoto K, Ushida K, Agata K, Okada N & Kohshima S (2005) Seasonal change in bacterial flora and biomass in mountain snow from the Tateyama mountains, Japan,

- analyzed by 16S rRNA gene sequencing and real-time PCR. *Appl Environ Microbiol* **71**: 123–130.
- Seshu Kumar G, Jagannadham MV & Ray MK (2002) Low-temperature-induced changes in composition and fluidity of lipopolysaccharides in the Antarctic psychrotrophic bacterium *Pseudomonas syringae*. *J Bacteriol* **184**: 6746–6749.
- Shaffer BT & Lighthart B (1997) Survey of culturable airborne bacteria at four diverse locations in Oregon: urban, rural, forest, and coastal. *Microb Ecol* **34**: 167–177.
- Shivaji S, Chaturvedi P, Reddy GS & Suresh K (2005) *Pedobacter himalayensis* sp. nov., from the Hamta glacier locations in the Himalayan mountain ranges of India. *Int J Syst Evol Microbiol* **55**: 1083–1088.
- Suzuki Y, Imai S, Kawakami M, Masuda K & Akasaka K (1998) Identification and determination of low-molecular-weight organic compounds in contaminated fog water using proton nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Bull Environ Contam Toxicol* **60**: 355–362.
- Wittmaack K, Wehnes H, Heinzmann U & Agerer R (2005) An overview on bioaerosols viewed by scanning electron microscopy. *Sci Total Environ* **346**: 244–255.
- Zhang XJ, Yao TD, Ma XJ & Wang NL (2002) Microorganisms in a high altitude glacier in Tibet. *Folia Microbiol* **47**: 241–245.



An important oceanic source of micro-organisms for cloud water at the Puy de Dôme (France)

Pierre Amato^{a,b,*}, Marius Parazols^{b,c}, Martine Sancelme^a, Gilles Mailhot^c,
Paolo Laj^b, Anne-Marie Delort^a

^a*Laboratoire de Synthèse et Etude de Systèmes à Intérêt Biologique, UMR 6504 CNRS-Université Blaise Pascal, 63177 Aubière Cedex, France*

^b*Laboratoire de Météorologie Physique, UMR 6016 CNRS-Université Blaise Pascal, 63177 Aubière Cedex, France*

^c*Laboratoire de Photochimie Moléculaire et Macromoléculaire, UMR 6505 CNRS-Université Blaise Pascal, 63177 Aubière Cedex, France*

Received 21 December 2006; received in revised form 19 June 2007; accepted 20 June 2007

Abstract

A description of the microbial content of cloud water based on samples collected along an almost 2-year-period is presented. Cloud water from 14 events was sampled at the Puy de Dôme summit (1465 m a.s.l.). Total bacterial and fungal cells were about, respectively, 8.1×10^4 and $5.9 \times 10^3 \text{ mL}^{-1}$, with more than 10% of the fungi but <1% of bacteria recovered by cultivation at 15 or 27 °C. However, ATP concentration of about $0.40 \text{ pmol mL}^{-1}$ shows that a large majority of these cells are likely viable but not cultivable and remain alive in clouds. A high variability is noticed in the microbial content, and local meteorological variations are not involved. A seasonal effect is shown, with a general increase in the concentrations of cultivable micro-organism and of total fungal cells during summer and autumn. Moreover, psychrotolerant micro-organisms, with respect to those growing only at 27 °C, are more numerous during winter. The concentrations of micro-organisms (total and cultivable) were clearly linked to the chemical composition of cloud water: an increase with increasing oceanic contribution is pointed, and bacteria concentration decreases with increasing anthropic influence. A preferential integration of micro-organisms emitted by the ocean into cloud droplets, compared to micro-organisms from other sources, is likely to occur, making the ocean a major source of micro-organisms for cloud water. It also suggests that the toxicity of polluted cloud water could disturb an eventual multiplication of cells in atmospheric droplets.

© 2007 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Keywords: Cloud water; Microorganisms; Bacteria; Fungi; Oceanic source

1. Introduction

Among the aerosol particles present in the atmosphere, numbers of micro-organisms likely released by ground sources can be found. They can be transported over long distances (Bovallius et al., 1978a) and are even retrieved in the mesosphere, as high as at 77 km from the Earth surface

*Corresponding author. Department of Biological Sciences, Louisiana State University, Baton Rouge, LA 70803, USA.
Tel.: +1 225 578 8059; fax: +1 225 578 2597.

E-mail address: pamato1@lsu.edu (P. Amato).

(Imshenetsky et al., 1978). Their presence in free atmosphere, in particular in the aqueous phase of tropospheric clouds, is notable for many reasons: first, they can serve as efficient cloud condensation nuclei (CCN) or ice nuclei (Szyrmer and Zawadzki, 1997; Cochet and Widehem, 2000) and could thus have an influence on cloud formations and developments; second, they are suspected to play a role in the chemical composition of atmosphere by contributing, in cloud water, to the degradation of compounds related to human activities (Ariya et al., 2002; Amato et al., 2005). Dissemination of micro-organisms in the air has therefore many ecological, meteorological and climatic implications but is also of public health concern as shown by recent problems related to the presence of *Legionella* in urban environments and also safety concern with their potential role in bioterrorism.

Bacterial and fungal cells are present, respectively, in concentrations of about $\sim 10^4$ and $\sim 10^3$ cells m^{-3} in a remote site under background atmospheric conditions (Katial et al., 1997; Bauer et al., 2002a; Harrison et al., 2004). About $\sim 10^2$ of these total cells can be retrieved by aerobic cultivation, for both bacteria and fungi (Shaffer and Lighthart, 1997; Di Giorgio et al., 1996). It is well assumed that airborne micro-organisms are less numerous at high altitude than close to the ground. The relative contribution of bacteria (with respect to fungal cells) increases with altitude (Fulton, 1966a,b) likely due to their smaller size and consequent lower settlement velocity (Shaffer and Lighthart, 1997; Jones and Harrison, 2004). The values of concentrations are highly variable at a given site, and many factors had been identified to be involved in the fluctuations observed. The period of the year seems to be the most important of them, and an increase during the warm season was shown in several studies (Bovallius et al., 1978b; Di Giorgio et al., 1996; Jones and Cookson, 1983; Katial et al., 1997). The existence of a diurnal cycle, with a maximum around midday, was also reported (Lighthart and Shaffer, 1995; Lighthart, 1999). In addition, urban-influenced air masses carry generally more bacteria than rural and coastal ones (Bovallius et al., 1978b; Fulton and Mitchell, 1966; Di Giorgio et al., 1996; Shaffer and Lighthart, 1997). A negative link between the anthropic influence on air masses and their quantitative content in micro-organisms was observed (Mancinelli and Shulls, 1978), and clearly occurs in fog droplets, as shown by Fuzzi et al. (1997).

A common feature of all these studies is the fact that they were performed under conditions free of liquid water; we focused for our part on tropospheric clouds, for which only a few data are available and no long-term study is yet reported. We present results from a 21-month survey of the microbiological communities in cloud droplets. Many parameters are taken into consideration, confronting quantitative contents in total and cultivable cells for bacteria and fungi, ATP measurements and temporal, meteorological and physicochemical factors.

2. Material and methods

2.1. Sampling site and cloud water collection

Cloud water sampling was performed using a cloud droplets impactor, following the procedure described in Amato et al. (2005). The sampling site was based at the Puy de Dôme summit (1465 m a.s.l., approximately 45°N, 2°E, France), where a strongly instrumented station for atmospheric observations and researches is installed. Clouds were randomly sampled, when they occurred on the summit, all along the year but without periodicity. For each event, several samples were successively collected and volumes of about 50 mL were taken every 2 h and treated in situ for further analyses. Properties of air masses (origin and physicochemical parameters) were recorded continuously and simultaneously to the sampling time by the Observatory station.

2.2. Physico-chemical parameters

Various chemical characteristics were considered from water samples collected with a dedicated impactor, similar to the one used for microbiological analyses. Many parameters were measured in situ, including pH, conductivity and redox potential (electrodes). Remaining volumes were kept frozen until analyses of the ionic and carbonaceous contents. Ions were measured by ionic chromatography (Dionex DX320, column AS11 for anions; Dionex ICS1500, column CS16 for cations), while total, total organic and total inorganic carbon concentrations were determined using a Shimadzu TOC5050A.

2.3. Total cell counts

Known volumes (from 5 to 15 mL) of collected cloud water were immediately fixed by equal

volumes of pre-filtered (0.2 μm , Millipore filters) 4–5% formaldehyde. Triplicates, when sample volumes were sufficient, or at least duplicates were made. The fixed samples were kept cold (but not frozen) until further analysis (less than a week later). Total cell counts were performed from filtered samples (black GTBP 0.22 μm filters (Millipore)), after being incubated 20 min in the dark and in the presence of 2.5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ of 4', 6-diamino-2-phenylindole (DAPI), a DNA-specific fluorochrome (Porter and Feig, 1980). Filters were mounted on slides to be observed under epifluorescence microscopy (Olympus BH-2). Fungi and yeasts, and bacteria were counted respectively under objectives $\times 40$ and $\times 100$. Cell numbers present on random fields were extrapolated to estimate their concentration in each sample (e.g. 30 fields for fungal cells and 50 for bacteria). Uncertainty on cell concentration vault about 30% of the mean count, as determined from replicates (at 95% confidence) for both bacteria and fungi.

2.4. Cultivable micro-organisms counts

Aerobic fraction of cultivable micro-organisms was measured by plating 0.1 mL of the sample on nutrient media: R2A medium for bacteria (Reasoner and Geldreich, 1985; DIFCO) and Sabouraud medium for fungi. This was performed directly on sampling site to avoid any problems of loss of cultivability caused by storage. Colonies formed after 5 days at 27 and at 15 $^{\circ}\text{C}$ were counted. Even if these temperatures are higher than those found in clouds (our maximal sampling temperature is 9.7 $^{\circ}\text{C}$), 15 $^{\circ}\text{C}$ is used to distinguish the fraction of psychrophilic, or at least psychrotolerant micro-organisms, from those unable to grow at relatively low temperature (undetected at 27 $^{\circ}\text{C}$). Triplicates were made for each kind of medium at each temperature.

2.5. Determination of ATP concentration

A small volume of each sample (0.4 mL) was strongly mixed in a microtube with an equal volume of extractant B/S from the ATP measurement kit used (ATP Biomass Kit HS, Biothema) and stored frozen until further analysis. ATP levels were determined by bioluminescence (its reaction with D-luciferin and luciferase produces photons proportionally to ATP) (Stanly and Williams, 1969), and the amount of light emitted from 0.1 or 0.2 mL of

the mix (sample plus extractant) was measured using a Biolumineter (Lumac Biocounter M2500).

3. Results and discussion

3.1. Microbial concentration and ATP measurements

3.1.1. Microbial concentration

Values of bacterial and fungal concentrations are summarized in Table 1, for total and cultivable cells (27 and 15 $^{\circ}\text{C}$). Data do not follow a Gaussian distribution, and as a consequence median is a better describing parameter than mean. The former falls in the lower range of values observed, and so is likely corresponding to the background levels in cloud water at the Puy de Dôme site: 8.1×10^4 bacterial cells and 4.8×10^3 fungal cells mL^{-1} of cloud water in median (means are respectively $10.2 \pm 3.7 \times 10^4 \text{ mL}^{-1}$ for bacteria and $7.47 \pm 4.14 \times 10^3 \text{ mL}^{-1}$ for fungal cells). We can note that

Table 1
Global microbiological characteristics of the cloud water samples collected at the Puy de Dôme site

		Bacteria	Fungi and yeasts
Total cells (N mL^{-1})	Median	8.1×10^4	4.8×10^3
	25-percentile	6.1×10^4	3.1×10^3
	75-percentile	1.3×10^5	8.1×10^3
	Min	1.7×10^4	8.9×10^2
	Max	2.4×10^5	2.5×10^4
Cells cultivable at 27 $^{\circ}\text{C}$ (N mL^{-1})	Median	100	673
	25-percentile	38	481
	75-percentile	301	1302
	Min	0	20
	Max	513	3000
Cells cultivable at 15 $^{\circ}\text{C}$ (N mL^{-1})	Median	112	590
	25-percentile	28	413
	75-percentile	180	980
	Min	3	10
	Max	373	1671
Proportion of cells cultivable at 27 $^{\circ}\text{C}$ (N mL^{-1})	Median	0.20%	13.81%
	25-percentile	0.05%	6.56%
	75-percentile	0.33%	24.86%
	Min	0.00%	1.32%
	Max	1.03%	36.09%
Proportion of cells cultivable at 15 $^{\circ}\text{C}$ (N mL^{-1})	Median	0.15%	9.87%
	25-percentile	0.02%	5.29%
	75-percentile	0.23%	15.39%
	Min	0.00%	0.12%
	Max	0.84%	40.94%

These values consider the 14 cloud events collected between June 2004 and October 2005.

bacterial cells are more than one order of magnitude more numerous than fungal cells, but their concentration appears to be two-fold less variable, with min:max ratios of about respectively 1:15 and 1:30. Furthermore, concentrations of the two types of cells do not vary in parallel, with a Pearson correlation coefficient r^2 very close to zero (precisely 5×10^{-5} , $n = 14$), testifying to the existence of different influencing factors for each of them.

Total bacteria concentration is comparable to what we previously observed in two samples collected at the Puy de Dôme (1465 m) (1×10^5 cells mL⁻¹) (Amato et al., 2005). It is slightly more than concentrations found at 1644 m in the Austrian Alps by Bauer et al. (2002a), of 2.0×10^4 cells mL⁻¹. As it is observed in free-of-cloud atmosphere, cloud water collected at higher altitude (3106 m) is less loaded in bacteria (1.5×10^3 bacteria mL⁻¹) (Sattler et al., 2001). Concerning fungal spores, our results are very close to those reported by Bauer et al. (2002a), of 5.9×10^3 cells mL⁻¹. The proportion of fungal cells with respect to bacteria that is observed at the Puy de Dôme is thus lower than in the Alpine site, but the high variability we observe limits the comparison. Such variability was described in another relevant environmental study about airborne fungal cells (Katial et al., 1997).

Considering mean values of 17 fg C cell⁻¹ for bacteria (Sattler et al., 2001) and 13 pg C cell⁻¹ for fungi (Bauer et al., 2002b), total micro-organisms represent in our samples about 64 ng mL⁻¹ of organic carbon (OC), corresponding to 2.3% of the total OC measured. Though they are less numerous, fungal spores are responsible for a larger part of the OC content (62.6 ng C mL⁻¹, 2.25% of the total OC). Bacteria represent less than <1.4 ng C mL⁻¹, only 0.05% of the total OC. Our values are in the same range than those published by Bauer et al. (2002a) who found 1.5% of OC due to fungal spores and 0.01% due to bacteria in cloud water samples. The slight differences between their percentages and ours attest of a relatively lower total OC content in our case, indicating quite similar remoteness from anthropic sources for the two sites.

Aerobic cultivable bacteria concentrations are very sparse, often lower than the limit generally admitted to allow a relevant count, corresponding to at least 30 colonies per Petri dish. As cultures were performed from volumes of 0.1 mL of cloud water, it indicates that <300 CFU mL⁻¹ were

present in the samples in those cases. Median values obtained are approximately about 100 colony-forming units (CFU) mL⁻¹, so quite similar to results of Bauer et al. (2002a) (about 120 CFU mL⁻¹) who cultured bacteria under the same conditions (27 °C and R2A). Incubations at 27 °C compared to 15 °C lead to more variable counts, with respective maxima of about 510 and 370 CFU mL⁻¹ (minima <10 CFU mL⁻¹). The number of bacterial colonies formed is not under dependence of the total bacteria content, and the cultivable fraction involves a weak fraction of the total number of bacteria, as determined by microscopy, ranging from about 0% to 1%. As typically observed in outdoor environments, viable but non-cultivable (VBNC) cells are certainly present (Kurath and Morita, 1983; Mascher et al., 2000; Bussmann et al., 2001). It is partly due to cultivation conditions, and it can also be induced by factors of stress potentially encountered in clouds, like starvation or rapid variations of osmotic pressure.

Concerning cultivable fungi and yeasts, they are, in proportion, much more retrieved by cultivation than bacteria. They are slightly more numerous at 15 °C (median of 673 mL⁻¹ representing 12.7% of the total) than at 27 °C (590 mL⁻¹, 9.9% of the total). Means are, respectively, 686 ± 291 mL⁻¹ at 15 °C and 889 ± 451 mL⁻¹ at 27 °C (at 95% confidence), and a high variability is noticed for both temperatures of incubation. In addition, while incubations at 15 °C lead to a better recovering of fungi, the highest values are observed at 27 °C. Conversely to bacteria, their number is closely related to the number of total fungal cells (Pearson $r^2 = 0.80$ at 27 °C, $r^2 = 0.56$ at 15 °C, $n = 14$). Consequently, the selection pressure due to abiotic factors for being more or less cultivable appears limited in the case of fungal spores. As a comparison, Bauer et al. (2002a) found an average of 159 CFU mL⁻¹ at 25 °C in their samples, corresponding to only 3.2% of the total, and the choice of the medium used could be at the origin of this difference.

3.1.2. ATP measurements

ATP (Adenosine TriPhosphate) which is a key molecule of the energetic cell metabolism was detected in each of the eight cloud water samples analysed for ATP, with a median concentration of 0.40 pmol mL⁻¹. A theoretical concentration has been calculated considering 3×10^{-6} pmol ATP bacteria⁻¹ (Franzen and Binkley, 1961) and

3×10^{-5} pmol ATP fungal spore⁻¹ (deducted from Rakotonirainy et al., 2003), and applied on total cell counts. Results are shown in Table 2. Median theoretical values of 0.24 and 0.12 pmol mL⁻¹ were found, respectively, for bacteria and fungi, giving an estimation of the theoretical ATP value for the total microbial content of 0.37 pmol mL⁻¹. This median value is very close to the measured one (0.40 pmol mL⁻¹). Although these calculations are really approximate, and that an important variability was observed in the different samples (see percentile and extreme values in Table 2) they show that most of the cells present in cloud water contain ATP molecules, a clear signature of active cells. So in spite of the low cultivability of micro-organisms isolated from cloud samples, this result suggests that many of them are still alive, remaining in a VBNC form. This result is of first importance as it allows foreseeing a role of the microbial metabolism in cloud chemistry. It is consistent with previous studies demonstrating the capacity of bacteria to live and even be active in cloud water, where they can find the required nutrients (Sattler et al., 2001). To our knowledge the use of ATP measurement is described here for the first time in atmospheric samples. This approach to characterize microbial content of clouds is very informative, easy and rapid, and could be applied in the case of monitoring purposes.

The main conclusions of this first part of the work are first that bacterial and fungal loads varied from a sample to another suggesting the influence of abiotic factors on the microbial content of clouds. Second, a majority of micro-organisms are likely to be alive in clouds, making them potential actors in the chemistry of these environments.

Table 2

Concentration of ATP in the eight distinct cloud samples in which ATP was measured, and theoretical concentrations attributable to bacteria and fungi and yeasts based on total cell counts

	ATP calculated (pmol mL ⁻¹)			ATP measured (pmol mL ⁻¹)
	Bacteria	Fungi and yeasts	Total	
Median	0.13	0.24	0.37	0.40
25-percentile	0.08	0.22	0.30	0.33
75-percentile	0.16	0.29	0.45	0.78
Min	0.04	0.11	0.15	0.04
Max	0.59	0.47	1.06	2.01

3.2. Influence of abiotic factors on the microbial content of clouds

3.2.1. Influence of meteorological factors

No correlation between microbiological content in clouds and local meteorological recordings, including temperature and wind speed, can be established. If we compare with results reported for airborne microbial content in dry air, some authors have found that microbial concentration is positively correlated with temperature and wind speed (Di Giorgio et al., 1996; Katial et al., 1997) while Harrison et al. (2004) only detected the influence of wind on fungi number. Many other examples could be cited, but their conclusions are very contradictory.

3.2.2. Influence of seasons

Fig. 1 shows seasonal variation of total cells concentrations and cultivable cells recovered by cultivation at 15 and 27 °C, both for bacteria and fungi. Cloud samples were distributed as follows: three events in spring, two in summer, five in autumn and four in winter. These numbers are too low to allow a statistical analysis but a seasonal tendency seems to appear.

Surprisingly, the lowest total bacteria concentration was found during summer (Fig. 1a). However, their cultivability is higher during that season (Fig. 1c), finally resulting in an increase on cultivable cell concentration (Fig. 1b). Thus, this cultivability progressively decreases after summer and the lowest concentration of cultivable cells is found during the coldest period of the year. Winter average temperature at the Puy de Dôme is usually lower than 0 °C when a cloud occurs. It likely contributes, with also the mechanical stress caused by the sampling procedure, to the loss of cultivability of bacteria, making them VBNC. In cloud-free air, similar observations concerning temporal variations of cultivable bacteria number are made (Bovallius et al., 1978b; Baxter and Cookson, 1983; Di Giorgio et al., 1996), but no data are available for total bacterial count.

Opposite to bacteria, fungi and yeasts are more numerous during summer than during the rest of the year, regarding both total (Fig. 1a) and cultivable concentrations (Fig. 1b). At this point, we can also note that season does not affect fungal cell cultivability (Fig. 1c), resulting in identical profiles of total and cultivable concentrations. These high concentrations of fungi during summer are likely linked to

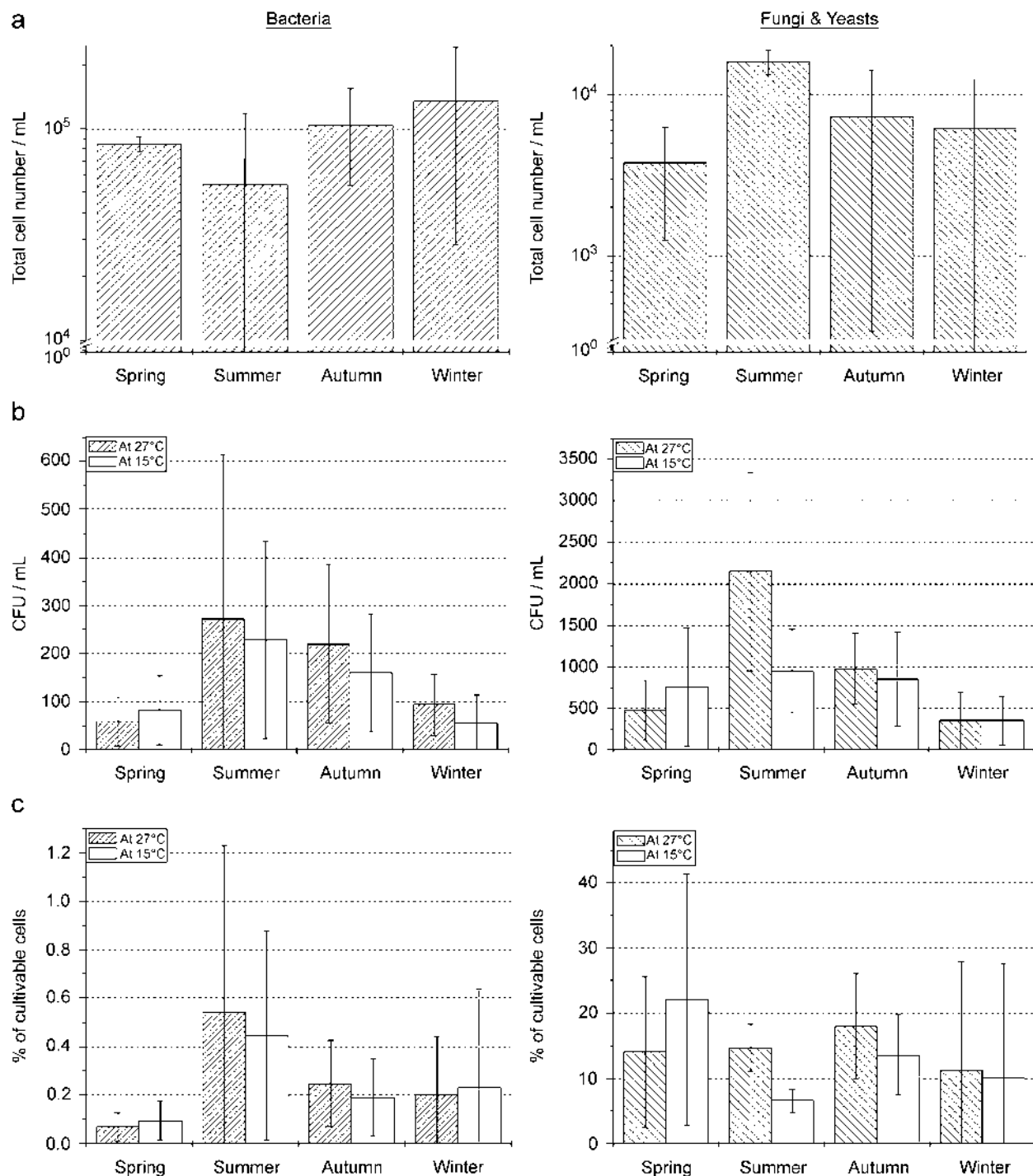


Fig. 1. Seasonal effect on bacterial and fungal contents in cloud droplets: (a) total cell counts; (b) counts of cultivable cells after incubation at 27 and 15 °C and (c) proportion of cultivable cells after incubation at the two temperatures investigated. Averages are represented, and error bars correspond to standard deviations of the measures.

emissions by spore releasing, that are known to be generally favoured under warm conditions (Jones and Harrison, 2004, and references therein), i.e. in

summer. Such variations were also observed by Katial et al. (1997) and Di Giorgio et al. (1996) in cloud-free air.

Interestingly, we observe that the temperature of cultivation leading to the highest recovery of micro-organisms varies along the year: the ratio between concentrations of cultivated micro-organisms at the two temperatures (15°C on 27°C) depends on season (Fig. 2). This value slowly rises from summer to autumn, winter and spring. In other words, some psychrophilic or psychrotolerant micro-organisms growing at 15°C are favoured during the coldest seasons (spring and winter) compared to mesophiles growing only at 27°C. This result suggests that not only the number of cultivable cells is season-dependent (see Fig. 1) but also the type of micro-organisms present is different. This is in agreement with a recent work (Amato et al., 2007) showing that Gram-negative bacteria are most abundant in summer, compared to winter. Also the phyla are different in samples collected during these two seasons, for instance the presence of Gamma-Proteobacteria is favoured in summer versus winter.

3.2.3. Links to chemical composition

In order to investigate any eventual link between the microbial load and the chemical composition of the water phase of clouds, pH, redox potential and conductivity were systematically measured. In addition, nine out of the 14 cloud events collected, regrouping 26 samples, have been chemically analysed by ionic chromatography. An acidic pH of cloud water testifies an anthropic influence for the Puy de Dôme site (Marinoni et al., 2004), while the Na⁺ content constitutes a good marker of the

degree of oceanic influence of an air masses arriving at the Puy de Dôme (Parazols et al., unpublished data). It is important to indicate that no overlap is detected between chemical composition and the factors previously treated, especially the season. The Student test confirms it indicating that no difference exists between Na⁺ concentration observed during autumn and spring ($p > 0.86$, with $v(1; 22)$).

Fig. 3 shows relations between the different microbiological parameters and the concentration of Na⁺ in the cloud water samples. All ionic measurements were carried out on samples collected either in spring or in autumn, except one in winter which is pointed out in the figure. Increasing concentration of total bacteria with increasing concentration of sodium is remarkable (Fig. 3a). Concerning cultivable cells and their proportion on the total bacteria, higher values are also observed in clouds in which the higher oceanic contributions are measured (Figs. 3b and c). The same tendencies are observed for fungi and yeasts, with lower concentrations of total cells when low levels of Na⁺ are present (Fig. 3a). The concentration of cultivable cells is also positively affected, but not their proportion for fungal cells.

This elevated correlation between microbial content of cloud water and the proportion of an ion issued from the ocean is quite surprising compared with previous works on airborne microbial content, that generally tend to conclude to higher values of concentration in continental sites than in coastal ones (Bovallius et al., 1978b; Shaffer and Lighthart, 1997). So it would be expected to find more cells under continental influence. Several causes can be responsible for such a difference, but the most probable hypothesis is that sea does not actually emit more micro-organisms than land, but implies a concomitant phenomenon: a differential integration of micro-organisms in liquid water, as a function of their ability to act as CCN. It means that micro-organisms of marine origin themselves or associated particles would be more efficient to act as CCN than those emitted from other sources, and would be thus preferentially integrated in cloud droplets. As a consequence they are more numerous in cloud water directly under marine influence than in clouds formed in air masses of continental origins. In addition, airborne micro-organisms are carried by large-sized aerosols (Shaffer and Lighthart, 1997) as those produced by oceanic sources, also known to represent a source of micro-organisms including fungi (Prasannarai and Sridhar, 2001). Moreover, it

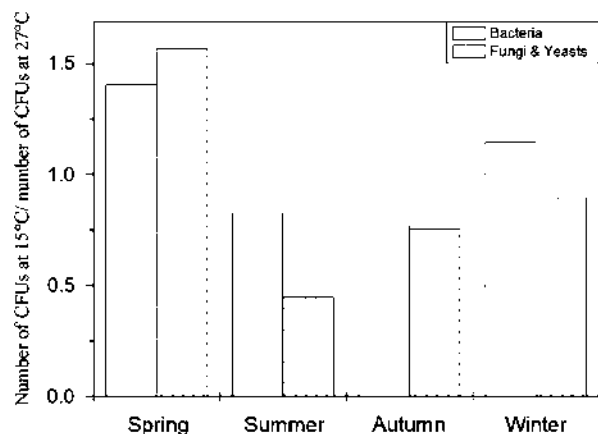


Fig. 2. Seasonal variations of the ratio between the proportions of cells forming colony at 15°C respect to 27°C for bacteria and for fungi and yeasts. Data presented in Fig. 1(c) are used to calculate the ratios.

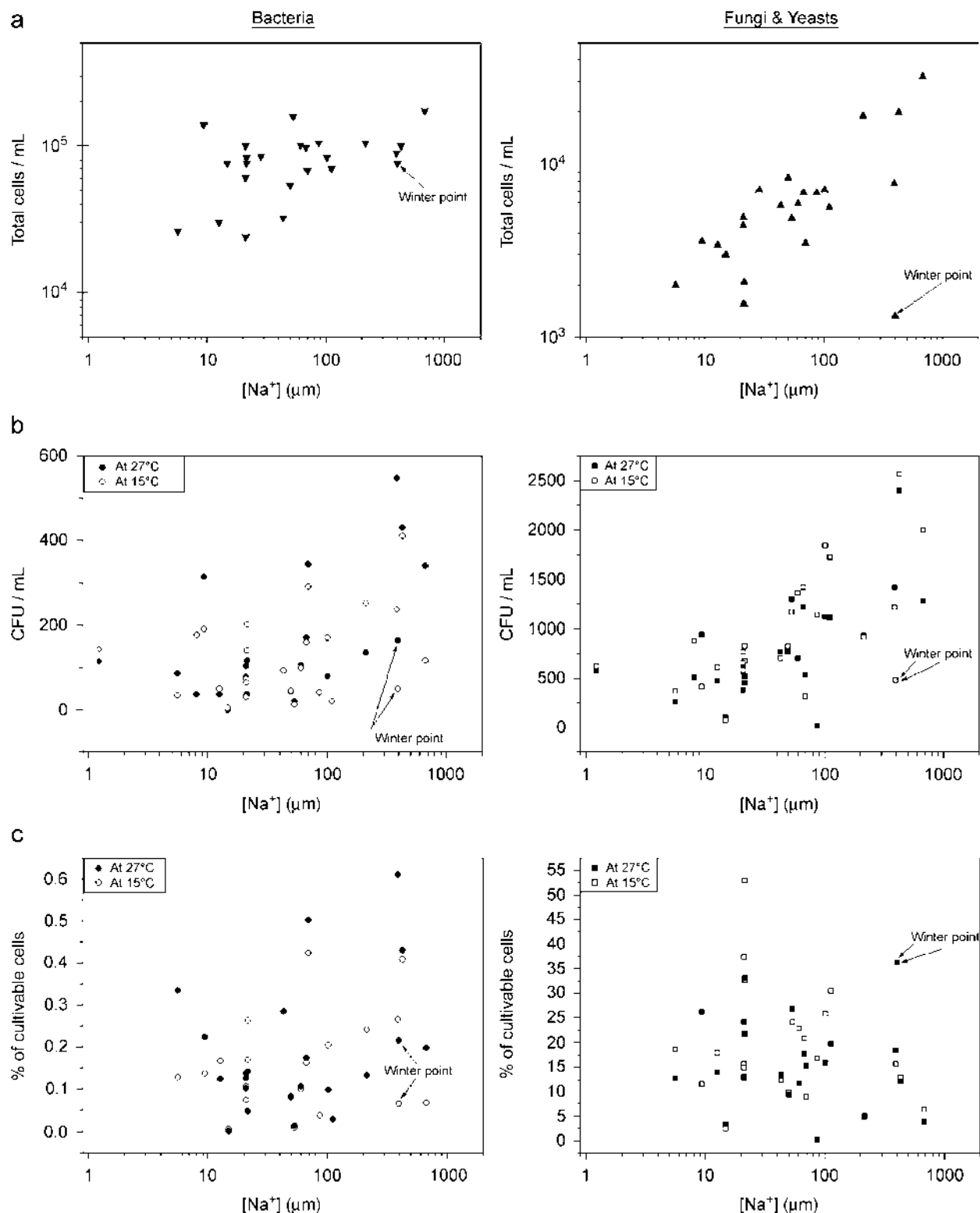


Fig. 3. Relation between microbiological characteristics and concentration of Na⁺ in cloud water. All data are from spring or autumn events, except one winter sample which is pointed: (a) total cell concentration; (b) concentration of cultivable cells after incubation at 27 and 15°C and (c) proportion of cultivable cells. Results obtained for each of the samples collected for each of the events are reported.

has been demonstrated than micro-organisms were more concentrated into droplets aerosolized from the surface of sea than into the sea water itself (Aller et al., 2005). Finally, the high hygroscopic property of NaCl particles permits the presence of liquid water on their surface at relatively low values of humidity (70%) (Lee et al., 2002). It could contribute to protect micro-organisms toward desiccation and osmotic shocks, and provide a more favourable media for microbial multiplication. The multiplication of bacteria in atmospheric water was suggested by Fuzzi et al. (1997), who observed higher quantities of cells per volume of air when fog was present than by clear conditions. Sattler et al. (2001) showed that cloud carried bacteria can multiply in the solution provided by cloud water and at a temperature encountered there (0 °C). We also observed that most of the isolated bacteria are able to sustain growth at 5 °C (Amato et al., 2007).

In our samples, pH ranged from 3.2 to 7.0. Fig. 4 shows that a strong link exists between pH and total bacteria concentration ($r^2 = 0.65$, $n = 29$), meaning a negative relation with the increasing anthropic influence on the air mass. Other microbiological parameters remain not significantly affected (not shown). Fuzzi et al. (1997), considering the cultivable fraction, also noticed a decrease in bacteria concentration in fog water by decreasing pH. Available data do not authorize yet to conclude on an actual causal effect of the anthropogenic atmospheric pollution on bacteria abundance. In our opinion, low emission of bacteria by urban areas in direction of clouds is the more probable

explanation that can be given. However, considering the previous data, it could mean that the pollution linked to Human activities is responsible of a decrease in cell multiplication, resulting in a decrease in total cells counted. Such a hypothesis was also formulated by Fuzzi et al. (1997).

On the whole, the chemical approach provides some new tracks in the understanding of the distribution of micro-organisms in the atmosphere. Results shows that the oceanic contributions to the microbial content of cloud water in free troposphere is likely more important than what can be expected at relatively long distances from the coast (about 400 km). On the contrary, the anthropogenic sources appear to be weaker.

4. Conclusion

In order to describe the microbial content of the cloud compartment of the atmosphere and its variations, cloud water have been sampled at different periods of the year and under various meteorological conditions. Concentration of bacteria is one order of magnitude higher than concentration of fungal cells, with respective values of about 8.1×10^4 and $5.9 \times 10^3 \text{ mL}^{-1}$. A maximum of 1% of the total bacteria are retrieved by cultural methods, conversely to fungal cells for which as high as about 40% can be recovered both at 27 and 15 °C. However, ATP measurements show that a large majority of bacteria are alive and active in clouds, as VBNC cells. A high variability in the microbiological parameters considered is noticed, independently for bacteria and for fungi. No influence of the local meteorological factors is detected, but a general seasonal tendency can be reported. Higher concentrations of cultivable bacteria and of total fungal cells are found in summer and autumn, consistently with the literature. It is also observed that the concentration of micro-organisms cultivable at 15 °C respect to those cultivable at 27 °C increases during the colder season, dealing with qualitative variations of composition.

In addition, strong links exist between microbiological parameters considered and chemical composition of cloud water. Values of concentration of total and cultivable cells are well correlated with the Na^+ content measured, and negatively with the anthropogenic influence (pH) for total bacteria. It suggests an important conclusion: micro-organisms originating from ocean are preferably integrated in cloud droplets compared to

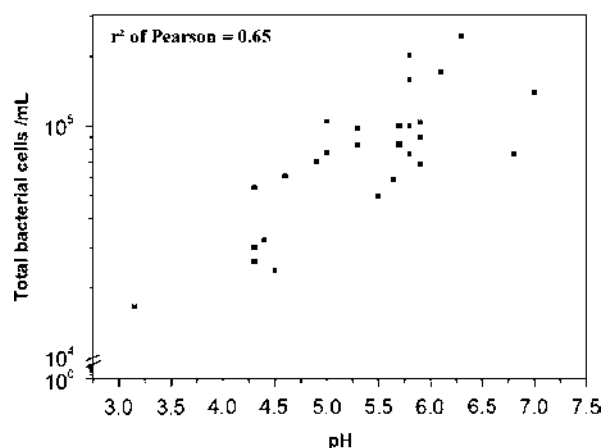


Fig. 4. Relation between concentration of total bacteria and pH in cloud water samples. Each of the samples collected for the 14 cloud events investigated is plotted here. A linear fit line shows the correlation ($r^2 = 0.65$).

those from continental sources, and as a consequence, ocean represents a major source for micro-organisms in direction of clouds. Many considerations can be given to support this idea, like the favoured aerosolization from water surfaces and the high hygroscopy and the size of oceanic aerosols.

Acknowledgements

The research was funded by the LEFE-CHAT programme of the CNRS and the ORE-BEAM programme of the French Ministry of Research. Pierre Amato is the recipient of a scholarship from the French Ministry of Research. Marius Parazols is under fellowship of the Region Auvergne which is also acknowledged. Finally, we thank Elodie Cano for her technical help.

References

- Aller, J.Y., Kuznetsova, M.R., Jahns, C.J., Kemp, P.F., 2005. The sea surface microlayer as a source of viral and bacterial enrichment in marine aerosols. *Aerosol Science* 36, 801–812.
- Amato, P., Ménager, M., Sancelme, M., Laj, P., Mailhot, G., Delort, A.-M., 2005. Microbial population in cloud water at the Puy de Dôme: implications for the chemistry of clouds. *Atmospheric Environment* 39, 4143–4153.
- Amato, P., Parazols, M., Sancelme, M., Laj, P., Mailhot, G., Delort, A.-M., 2007. Microorganisms isolated from the water phase of tropospheric clouds at the Puy de Dôme: major groups and growth abilities at low temperature. *FEMS Microbiology Ecology* 59, 242–254.
- Ariya, P.A., Nepotchatykh, O., Ignatova, O., Amyot, M., 2002. Microbiological degradation of atmospheric organic compounds. *Geophysical Research Letters* 29, 2077–2080.
- Bauer, H., Kasper-Giebl, A., Löflund, M., Giebl, H., Hitenberger, R., Zibuschka, F., Puxbaum, H., 2002a. The contribution of bacteria and fungal spores to the organic carbon content of cloud water, precipitation and aerosols. *Atmospheric Research* 64, 109–119.
- Bauer, H., Kasper-Giebl, A., Zibuschka, F., Hitenberger, R., Kraus, G.F.R., Puxbaum, H., 2002b. Determination of the carbon content of airborne fungal spores. *Analytical Chemistry* 74, 91–95.
- Baxter, L.J., Cookson, J.T., 1983. Natural atmospheric microbial conditions in a typical suburban area. *Applied and Environmental Microbiology* 45, 919–934.
- Bovallius, Å., Bucht, B., Roffey, R., Ånäs, P., 1978a. Long-range air transmission of bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 36, 1231–1232.
- Bovallius, Å., Bucht, B., Roffey, R., Ånäs, P., 1978b. Three-year investigation of the natural airborne bacterial flora at four localities in Sweden. *Applied and Environmental Microbiology* 35, 847–852.
- Busmann, I., Philipp, B., Schink, B., 2001. Factors influencing the cultivability of lake water bacteria. *Journal of Microbiological Methods* 47, 41–50.
- Cochet, N., Widehem, P., 2000. Ice crystallization by *Pseudomonas syringae*. *Applied Microbiology Biotechnology* 54, 153–161.
- Di Giorgio, C., Krempff, A., Guiraud, H., Binder, P., Turet, C., Dumenil, G., 1996. Atmospheric pollution by airborne microorganisms in the city of Marseilles. *Atmospheric Environment* 30, 155–160.
- Franzen, J.S., Binkley, S.B., 1961. Comparison of the acid-soluble nucleotides in *Escherichia coli* at different growth rates. *The Journal of Biological Chemistry* 236, 515–519.
- Fulton, J.D., 1966a. Micro-organisms of the upper atmosphere: III. Relationship between altitude and micropopulation. *Applied Microbiology* 14, 237–240.
- Fulton, J.D., 1966b. Micro-organisms of the upper atmosphere: V. Relationship between frontal activity and the micropopulation at altitude. *Applied Microbiology* 14, 245–250.
- Fulton, J.D., Mitchell, R.B., 1966. Micro-organisms of the upper atmosphere: II. Microorganisms in two types of air masses at 690 meters over a city. *Applied Microbiology* 14, 232–236.
- Fuzzi, S., Mandrioli, P., Peretto, A., 1997. Fog droplets—an atmospheric source of secondary biological aerosol particles. *Atmospheric Environment* 31, 287–290.
- Harrison, R.M., Jones, A.M., Biggins, P.D.E., Pomeroy, N., Cox, C.S., Kidd, S.P., Hobman, J.L., Brown, N.L., Beswick, A., 2004. Climate factors influencing bacterial count in background air samples. *International Journal of Biometeorology* 49, 167–178.
- Imshenetsky, A.A., Lysenko, S.V., Kazakov, G.A., 1978. Upper boundary of the biosphere. *Applied and Environmental Microbiology* 35, 1–5.
- Jones, B.L., Cookson, J.T., 1983. Natural atmospheric microbial conditions in a typical suburban area. *Applied and Environmental Microbiology* 45, 919–934.
- Jones, A.M., Harrison, R.M., 2004. The effects of meteorological factors on atmospheric bioaerosol concentrations—a review. *Science of the Total Environment* 326, 151–180.
- Katial, R.K., Zhang, Y., Jones, H.J., Dyer, P.D., 1997. Atmospheric mold spore counts in relation to meteorological parameters. *International Journal of Biometeorology* 41, 17–22.
- Kurath, G., Morita, R.Y., 1983. Starvation-survival physiological studies of a marine *Pseudomonas* sp. *Applied and Environmental Microbiology* 45, 1206–1211.
- Lee, U.B., Kim, H.K., Kim, S.S., 2002. Hygroscopic growth of *E. coli* and *B. subtilis* bioaerosols. *Aerosol Science* 33, 1721–1723.
- Lighthart, B., 1999. An hypothesis describing the general temporal and spatial distribution of alfresco bacteria in the earth's atmospheric surface layer. *Atmospheric Environment* 33, 611–615.
- Lighthart, B., Shaffer, B.T., 1995. Airborne bacteria in the atmospheric surface layer: temporal distribution above a grass seed field. *Applied and Environmental Microbiology* 61, 1492–1496.
- Mancinelli, R., Shulls, W.A., 1978. Airborne bacteria in an urban environment. *Applied and Environmental Microbiology* 35, 1095–1101.
- Marinoni, A., Laj, P., Sellegri, K., Mailhot, G., 2004. Cloud chemistry at the Puy de Dôme: variability and relationships with environmental factors. *Atmospheric Chemistry and Physics* 4, 715–728.

- Mascher, F., Hase, C., Moëgne-Loccoz, Y., Défago, G., 2000. The viable-but-nonculturable state induced by abiotic stress in the biocontrol agent *Pseudomonas fluorescens* CHA0 does not promote strain persistence in soil. *Applied and Environmental Microbiology* 66, 1662–1667.
- Porter, K.G., Feig, Y.S., 1980. The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. *Limnology Oceanography* 25, 943–948.
- Prasannarai, K., Sridhar, K.R., 2001. Diversity and abundance of higher marine fungi on woody substrates along the west coast of India. *Current Science* 81, 304–311.
- Rakotonirainy, M.S., Héraud, C., Lavédrine, B., 2003. Detection of viable fungal spores contaminant on documents and rapid control of the effectiveness of an ethylene oxide disinfection using ATP assay. *Luminescence* 18, 113–121.
- Reasoner, D.J., Geldreich, E.E., 1985. A new medium for the enumeration and subculture of bacteria from potable water. *Applied and Environmental Microbiology* 49, 1–7.
- Sattler, B., Puxbaum, H., Psenner, R., 2001. Bacterial growth in supercooled cloud droplets. *Geophysical Research Letters* 28, 239–242.
- Shaffer, B.T., Lighthart, B., 1997. Survey of culturable airborne bacteria at four diverse location in Oregon: urban, rural, forest, and coastal. *Microbial Ecology* 34, 167–177.
- Stanly, P.E., Williams, S.G., 1969. Use of the liquid scintillation spectrometer for determining adenosine triphosphate by the luciferase enzyme. *Analytical Biochemistry* 29, 381–392.
- Szyrmer, W., Zawadzki, I., 1997. Biogenic and anthropogenic sources of ice-forming nuclei: a review. *Bulletin of the American Meteorological Society* 78, 209–227.

- Résumé -

Ce travail consiste en une étude de la réactivité de la phase aqueuse des nuages prélevée au sommet du puy de Dôme. Elle est basée sur des analyses physico-chimiques d'échantillons de nuages, ainsi que sur des expériences d'irradiation en laboratoire visant à mettre en évidence une réactivité photochimique. La première partie des résultats constitue une caractérisation des différents nuages prélevés mettant en évidence les influences océaniques (flux d'ouest avec une forte proportion de Na^+ et des pH proches de 5,5) et anthropiques (flux de nord-est avec une forte proportion de NO_3^- et des pH proches de 3,5). La deuxième partie s'intéresse aux sources photochimiques de radicaux HO^\bullet dans la phase aqueuse des nuages que sont le fer et le H_2O_2 . Le fer montre une photoréactivité très faible que ce soit dans les mesures de terrain ou sous irradiation en laboratoire avec une spéciation stable à 70% sous sa forme réduite. Le H_2O_2 prend sa source principalement dans la phase gazeuse atmosphérique et constitue via sa photolyse une source de radicaux HO^\bullet dans la phase aqueuse du nuage. Cependant, il faut noter que les concentrations en H_2O_2 sont plus faibles dans les masses d'air sous influence anthropique. Ensuite dans une troisième partie les premiers éléments de comparaison entre les dégradations par les microorganismes isolés de la phase aqueuse des nuages et les dégradations par les radicaux HO^\bullet en laboratoire ont été obtenus dans un cadre expérimental commun. Ces expériences montrent des vitesses de dégradation assez semblables. Dans une quatrième partie les dégradations par attaque des radicaux HO^\bullet en phase aqueuse de 13 acides carboxyliques et de 2 aldéhydes (composés organiques majoritaires dans l'eau des nuages) ont été analysées en termes de vitesses et de produits de dégradation. Ces expériences ont permis d'établir un schéma global de ces voies de dégradation plus complet que ceux de la littérature. Enfin, une cinquième partie montre clairement au cours d'expériences en laboratoire la formation secondaire photochimique en phase aqueuse du nuage d'acide carboxyliques à courte chaîne carbonée. Ces observations sont confortées par des données de terrain mettant en évidence des tendances similaires.

- Summary -

This work is a study of the reactivity of cloud aqueous phase sampled at the top of the puy de Dôme. It is based on field physicochemical analyses on cloud samples, and on laboratory irradiation experiments to estimate photochemical reactivity. The first part of results is a characterisation of the different kind of clouds sampled which shows strong oceanic (west flux with high Na^+ proportion and pH near 5.5) and anthropogenic influences (north-east flux with high NO_3^- proportion and pH near 3.5). The second part concerns the photochemical sources of HO^\bullet radicals in cloud aqueous phase; iron species and H_2O_2 . Iron shows a very low reactivity in natural samples and under laboratory irradiation with a speciation of 70% in its reduced form. H_2O_2 is mainly produced in gaseous phase and constitute, with its photolysis, an aqueous source of HO^\bullet radicals in cloud aqueous phase where its concentration are clearly lowered by anthropogenic influence. Then, in a third part, comparison of microbiological and photochemical degradations (with HO^\bullet generated by H_2O_2 photolysis) are carried out in a laboratory common experimental setting. These experiences show similar kinetics and rates of organic compounds degradation. In a fourth part degradation of 13 carboxylic acids and 2 aldehydes (major organic compounds of cloud aqueous phase) by HO^\bullet radicals were analysed to highlight degradation products. These experiments allowed us to establish a global scheme of these degradation pathways more precise than those in the literature. At last, a fifth part clearly proves secondary photochemical production of small chain carboxylic acids in cloud aqueous phase. These observations are compared with field data that show similar tendencies.